Aus der Klinik für Pferdekrankheiten
der veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität B e r l i n

Direktor: Prof. Dr. E. B e c k e r

BILIRUBINBESTIMMUNGEN IM BLUTSERUM BEI PFERDEN, INSBESONDERE BEI PFERDEN IM HUNGERZUSTAND

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Horst K e l l e r
Tierarzt aus Eichtal/Westpr.

Berlin 1962
Journal-Nr. 403

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546822_0035

Aus der Klinik für Pferdekrankheiten
der veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität B e r l i n

Direktor: Prof. Dr. E. B e c k e r

BILIRUBINBESTIMMUNGEN IM BLUTSERUM BEI PFERDEN, INSBESONDERE BEI PFERDEN IM HUNGERZUSTAND

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Horst K e l l e r
Tierarzt aus Eichtal/Westpr.

Berlin 1962

Journal-Nr. 403

Gedruckt mit Genehmigung
der vet.-med. Fakultät
der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. H. J. Heidrich

Referent: Prof. Dr. E. Becker

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Niepage

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Tag der Promotion: 19.Dezember 1962

Meinen lieben Eltern!

BILIRUBINBESTIMMUNGEN IM BLUTSERUM BEI PFERDEN,
INSBESONDERE BEI PFERDEN IM HUNGERZUSTAND

I. Einleitung:
Probleme bei der Leberdiagnostik des Pferdes
und klinische Bedeutung der Bilirubinbestimmung

II. Literatur:
a) Der Bilirubinstoffwechsel
b) Bestimmungsmethoden des Serumbilirubins
c) Bilirubinbestimmungen bei Pferden

III. Eigene Untersuchungen:
1. Methodik
2a) Bestimmung des Gesamtbilirubins bei
klinisch gesunden Pferden
b) Bestimmung des "direkten" Bilirubins bei
klinisch gesunden Pferden
3a) Bestimmung des Gesamtbilirubins
bei hungernden Pferden
b) Bestimmung des"direkten" Bilirubins
bei hungernden Pferden

4. Diskussion der Untersuchungsergebnisse

IV. Zusammenfassung

V. Literaturverzeichnis

VI. Lebenslauf

I. E i n l e i t u n g :

Probleme bei der Leberdiagnostik des Pferdes und klinische Bedeutung der Serumbilirubinbestimmung

Erkrankungen der Leber beim Pferd werden klinisch nur selten festgestellt. In der Pathologie kennt man neben der Hepatitis auch die Cirrhose und die Leberdegeneration.

Unter dem Begriff der Hepatitis werden mehrere Krankheitszustände zusammengefaßt, die bei den Haustieren häufig enzootisch auftreten. Hervorgerufen werden diese Leberentzündungen durch Futtergifte, Toxine von Mikroorganismen oder durch Stoffwechselerkrankungen. Als spezifische Lebererkrankung bei Pferden kennt man in einigen Ländern die akute Leberdystrophie. Ihre Ursache ist unbekannt. Die Krankheit verläuft mit dummkollerartigen Symptomen und endet meist nach 3 bis 4 Tagen mit dem Tod des Tieres (WIRTH und DIERNHOFER (59)).

Die Lebercirrhose ist eine unter vollständigem Umbau des Lebergewebes verlaufende chronische Leberentzündung. Es kommt zu einem Verlust des Parenchyms mit gleichzeitiger Schädigung des Stützgewebes. Die einsetzende Bindegewebevermehrung und die Regenerationsversuche bedingen eine Änderung der Leberstruktur. Die Bindegewebswucherung führt zur Narbenbildung und Verkleinerung der Leber. Solche Leberverhärtung findet man beim Pferd bei der Schweinsberger Krankheit (Leberkoller) und der Dunziekte in Südafrika.

Beim Pferd findet man häufig die amyloide Degeneration. Sie entwickelt sich meist im Verlauf von langwierigen Eiterungsprozessen und Zehrkrankheiten. Bei Serumpferden tritt oft die Amyloidentartung mit erheblicher Vergrößerung der Leber in Erscheinung. Die Leber wird in ihrer Konsistenz mürbe und neigt dann leicht zu tödlich verlaufenden Rupturen.

Es ist sehr schwer, durch einfache klinische Untersuchungen Veränderungen der Leber festzustellen. Die Perkussion ergibt dicht hinter der rechten Lungengrenze eine nicht sicher abgrenzbare Dämpfung. Der größte Teil der Leber ist jedoch von der Lunge bedeckt.

Vergrößert sich die erkrankte Leber, so findet man rechts eine Dämpfung im Bereich des 10. Zwischenrippenraumes, kaudoventral bis an die Linea alba hinziehend. Die Leber kann sich ventral über den Rippenbogen hinausreichend bis zum 17. Zwischenrippenraum erstrecken. Eine derart starke Vergrößerung ist aber oft durch eine schwache Vorwölbung der Unterrippengegend gekennzeichnet. Auf der linken Seite ist dagegen nur ein Dämpfungsbezirk im 8. bis 10. Intercostalraum unterhalb der Lungengrenze festzustellen. Diese Ergebnisse findet man jedoch erst bei erheblichen Veränderungen der Leber. MAREK und MOCSY (35) beschrieben eine schwache Vorwölbung der rechten Unterrippengegend bei einer fünffachen Lebervergrößerung.

Auch die Schmerzperkussion, die Prüfung der Farbe der Schleimhäute und Untersuchungen des Harnes und Kotes auf Gallenfarbstoffe sind meistens erst dann eindeutig, wenn schon eine irreversible Leberschädigung eingetreten ist. Somit ergeben diese Untersuchungen keine eindeutigen Ergebnisse. Es gibt zum Beispiel Pferde, die jahrelang eine leicht-gelbliche Verfärbung der Schleimhäute aufweisen, ohne daß eine Schädigung der Leber festzustellen ist. In solchen Fällen bewegt sich sogar häufig der Bilirubinspiegel des Blutes in physiologischen Grenzen.

Die bei Lebererkrankungen auftretende Gelbfärbung der Haut und der Schleimhäute wird als Ikterus bezeichnet. Der Ikterus entsteht durch den Übertritt von Gallenfarbstoff ins Gewebe und ist auf ein Mißverhältnis zwischen der Bilirubinbildung und der Bilirubinausscheidung zurückzuführen.

Im Verlaufe des letzten Jahrhunderts wurde immer größerer Wert auf die Untersuchung der Funktion dieser größten Drüse des Organismus gelegt. Die Entdeckung CLAUDE BERNARDS im Jahre 1859, daß die Leber Glykogenbildner und -speicher sei, brachte neue Gesichtspunkte für die Untersuchung der Leberfunktion. Durch die Fortschritte auf dem Gebiet der Laboratoriumsmedizin kann man heute einen Einblick in den Kohlehydrat-, Fett- und Eiweißstoffwechsel der Leber mittels verschiedenster Funktionsprüfungen gewinnen.

Viele dieser Prüfungen lassen sich bei Tieren, ins-

besondere bei den Pflanzenfressern, nicht anwenden, da ihr Ausfall oft unterschiedlich und unklar ist. In der Veterinärmedizin wird die Bromsulphalein - Belastungsprobe als Farbstoffprobe angewandt. Die Leber fängt diesen dem Blutkreislauf zugeführten Farbstoff ab und scheidet ihn mit der Galle aus. Bei vorhandenen Leberparenchymschädigungen ist die Ausscheidungszeit des Bromsulphaleins aus der Blutbahn mehr oder weniger erhöht.

Die Galleproduktion der Leber ist schon seit HIPPOKRATES bekannt. Die Galle enthält neben anorganischen Bestandteilen und den Gallensäuren die Gallenfarbstoffe. Diese geben der Galle auch die Farbe. So haben die Fleischfresser eine goldgelbe bis braune und die Pflanzenfresser eine grüne bis braungrüne Gallenfarbe. Die hauptsächlichsten Gallenfarbstoffe sind das Bilirubin und das grüne Biliverdin.

Mit Hilfe der Bilirubinbestimmung kann man Rückschlüsse auf eventuelle Funktionsstörungen der Leber ziehen. In der Humanmedizin wird diese Erkenntnis seit langem zu Routineuntersuchungen benutzt. Die bisher erreichten Erfolge sind recht gut und geben Aufschlüsse bei bestimmten Lebererkrankungen. Die Ergebnisse hängen jedoch sehr stark von den angewandten Bestimmungsmethoden ab. Deshalb müssen bei Vergleichen der einzelnen Ergebnisse immer die benutzten Methoden berücksichtigt werden.

Die Bestimmung des Serumbilirubins gibt eine viel bessere Auskunft über das Vorhandensein eines offenbaren oder latenten Ikterus als die Bestimmung des Bilirubins im Harn. Der Harn der Herbivoren enthält unter physiologischen Bedingungen kein Bilirubin. BERGER (5) fand bei Untersuchungen des Pferde- und Rinderharnes auf Urobilinoide nur Sterkobilin.

Das Bilirubin enthält zwei Komponenten: das "direkte" und das "indirekte" Bilirubin. Über die Bedeutung der beiden Bilirubinkomponenten ist man sich jedoch nicht klar. Bekannt ist, daß das "indirekte" Bilirubin nicht in den Harn übergeht,und daß das "direkte" Bilirubin nur bei einer Bilirubinkonzentration im Blute von über 2 mg% im Harn zu finden ist (MAREK und MOCSY (35)).

Viele Wissenschaftler vertreten die Meinung, daß quantitative Messungen des "direkten" Bilirubins nur von geringem klinischen Wert sind. Das "direkte" Bilirubin hat nur seinen besonderen Wert bei der Diagnostizierung des hämolytischen Ikterus, da es dann nicht erhöht bzw. nicht vorhanden ist (WITH (60)).

II. Literatur:

a) Der Bilirubinstoffwechsel

Bilirubin entsteht durch Oxydation des Hämoglobins. Das Hämoglobin, der wichtigste Bestandteil der roten Blutzellen, wird beim Abbau der überalterten Blutkörperchen frei. Die roten Blutkörperchen haben eine begrenzte Lebensdauer von etwa 4 Monaten und werden dann im Reticulo-endothelialen System zerstört. Das dabei freiwerdende Hämoglobin wird dadurch abgebaut, daß der Porphinring des Hämoglobins unter oxydativer Abspaltung der Methingruppe zwischen dem 1. und 2. Pyrrolring aufgebrochen wird. Das Hämoglobin geht in einen grünen Farbstoff über, das Verdoglobin. Nach weiterer Abspaltung von Eisen und Globin entsteht der Gallenfarbstoff Biliverdin. Dieser gibt durch seine Farbe der Galle der meisten Herbivoren den grünen Farbton.

Beim Menschen und den meisten Carnivoren ist die Galle gelb bis gelbbraun gefärbt. Das ist bedingt durch den weiteren Abbau des Biliverdins in das gelbe Bilirubin. BAUMGÄRTEL und WINHOLD (4d) stellten dazu fest, daß die Galle des Menschen und der Carnivoren ein Ferment enthält, welches Biliverdin zu Bilirubin und dieses teilweise über Mesobilirubin zu Urobilinogen reduziert. Dieses Ferment fehlt dagegen in der Galle der Herbivoren (BAUMGÄRTEL und HOFSTÄTTER (4b)).

Nach BAUMGÄRTEL (3) ist die Leber die wichtigste physiologische Bilirubinbildungsstätte. Er stützt sich dabei auf viele klinische und experimentelle Untersuchungen. So ist bekannt, daß der mit dem Pfortaderblut der Leber zuströmende Blutfarbstoff in der Leber in Gallenfarbstoff umgewandelt wird. Die Leber scheidet ununterbrochen gallenfarbstoffhaltige Galle ab.

TANIGUCHI (53) hat bei Hunden den Ductus choledochus unterbunden und die Gallenblase exstirpiert. Nach 15 - 20 Stunden kam es im Blut zu einer Bilirubinspiegelerhöhung um 2/3 des Ausgangswertes. Damit wurde erwiesen, daß eine dauernde Neubildung von Gallenfarbstoff in der Leber stattfindet. Ist jedoch der Abfluß der Galle blockiert, so muß

zwangsläufig der Gallenfarbstoff ins Blut übertreten.

MANN und MAGATH (34) haben beim leberexstirpierten Hund nur einen geringen Anstieg des Blutbilirubinspiegels festgestellt. In begrenztem Umfang wird demnach auch in der Milz, im Knochenmark und im strömenden Blut der Blutfarbstoff in Gallenfarbstoff umgewandelt. Es bleibt die Frage offen, wo in der Leber der Blutfarbstoff abgebaut wird. Ob ~~aber~~ dies in den Kupfferschen Sternzellen oder in den Leberparenchymzellen erfolgt, konnte bis heute noch nicht geklärt werden. Viele Forscher nehmen an, daß die Kupfferschen Sternzellen des ganzen RES das Hämoglobin in den Gallenfarbstoff umwandeln. Diese Theorie wird durch Untersuchungen von LÖWITT (32) 1889 an Fröschen, von Mc. NEE (36) und ASCHOFF (2) an Gänsen, TANIGUCHI (53) und MANN und MAGATH (34) an Hunden untermauert.

Die Versuche an hepatektomierten Tieren zeigen, daß bei Ausschaltung der Leber noch weiterhin ein gewisser Teil des Gallenfarbstoffes im Organismus gebildet wird. Somit ist eine extrahepatische Bilirubinbildung, wenn auch keine sehr große, ebenfalls erwiesen. Damit ist aber noch nicht gesagt, daß die Kupfferschen Sternzellen die alleinigen Blutfarbstoffumwandler sind. LEPEHNE (30) und ROSENTHAL, MELCHIOR und LICHT (50) versuchten durch Blockade des RES die nötigen Beweise zu erbringen, daß der Abbau des roten Blutfarbstoffes im RES erfolgt. Dabei kam es in 50% der Fälle zur Ausbildung eines Ikterus. 50% der Fälle verliefen ohne Ikterus.

VIRCHOW (56) fand bereits 1846 in Blutergüssen einen auskristallisierten Farbstoff, den er Hämotoidin nannte. Später stellte sich heraus, daß dieses Hämatoidin mit dem Bilirubin identisch ist. Somit ist auch eine extrahepatische Bilirubinbildung ohne Beteiligung des RES erwiesen.

Andere Forscher sehen in den Parenchymzellen der Leber die Stätte, in welcher der Gallenfarbstoff gebildet wird. PFUHL (46) fand, daß beim Menschen die Kupfferschen Sternzellen der Leber intakte Erytrocyten nicht phagocytieren, sondern nur deren Bruchstücke oder Inhaltsstoffe. Der biologische Zerfall der roten Blutzellen spielt sich vor allem in der Milz

ab. Bei Milzexstirpationen zeigt es sich, daß die Kupfferschen Sternzellen der Leber hypertrophieren und intakte Erytrocyten phagocytieren. Im physiologischen Zustand geschieht solches nicht. Daraus kann man folgern, daß die Leberzellen den in der Milz freigewordenen Blutfarbstoff abbauen. Das zeigen auch die Versuche von ROSENTHAL, MELCHIOR und LICHT (50) und TANIGUCHI (53).

Das von der Leber produzierte Bilirubin wird der Galle beigemischt. Die Galle wird dann in der Gallenblase gesammelt und eingedickt. Zu erwähnen wäre hier, daß einige Tiere keine Gallenblase besitzen. Nach ELLENBERGER und BAUM (16)sindesdas Pferd, das Kamel, der Hirsch, das Reh, die Ratte und die Hausmaus - die weiße Maus hat eine Gallenblase -, die Taube, das Perlhuhn, der Strauß und der Papagei.

Beim Menschen wird ein Teil des Gallenbilirubins in der Gallenblase fermentativ über Mesobilirubin in Urobilinogen reduziert. Über den Ductus choledochus gelangt die Galle durch nervös gesteuerte Entleerungsakte in den Darm. Nach BAUMGÄRTEL (3) werden das Urobilinogen im Duodenum und das Mesobilirubin im Jejunum resorbiert und gelangen über die Pfortader wieder in die Leber, wo sie zerstört werden. Im Dickdarm wird ein Teil des restlichen Bilirubins durch Anaerobier zu Sterkobilirubin reduziert. Dieses wird vom Plexus haemorrhoidalis resorbiert und über den Harn ausgeschieden. Der letzte Teil des Gallenfarbstoffes geht im Dickdarm über Mesobilifuscin in das Bilifuscin über. Das Bilifuscin gibt den Faeces die braune Farbe.

Nun stellte man beim Pferd fest, daß nur minimale ~~ste~~ Mengen an Gallenfarbstoffen mit der Galle ausgeschieden werden. Dafür hat das Pferd einen auffallend hohen Serumbilirubinspiegel. Unter normalen Bedingungen findet man auch kein Harnbilirubin (BIERTHEN (9) und BERGER (5)). Also muß hier das Bilirubin noch weiter zu einfacheren Verbindungen abgebaut werden. Einen solchen Abbau der Gallenfarbstoffe zu unbekannten Verbindungen fanden WATSON (57) und Mitarbeiter 1957 auch beim Menschen.

Auf welchem Wege gelangt aber das Bilirubin der Le-

ber direkt in die Blutbahn? Schon NAUNYN (44) 1869 und MEYER und HEINELT (39) 1920 konnten feststellen, daß es im Hungerzustand zu einer Hyperbilirubinämie kommt. BAUMGÄRTEL (3) fand, daß bei einem Parenchymikterus durch Glukosegaben die Urobilinogenurie verstärkt wird. Nach ISAAC (24) bedingen Glukosegaben eine Reizwirkung auf die Leberzellen mit zwangsläufiger Mobilisierung des Leberglykogens. Aber auch Adrenalin- und Thyroxingaben verstärken einen vorhandenen Ikterus. Da erfahrungsgemäß bei allen hepatischen Ikterusformen ein Glykogenmangel vorliegt, muß zwischen Ikterusgenese und Glykogenolyse ein Zusammenhang bestehen.

Kommt das Bilirubin in der Leber zur Stagnation, so wirkt es wie hepatotoxische Substanzen glykogenotoxisch. Da die Glukose die Permeabilität der Zellen erhöht, wird auch in den Leberzellen an den Übergangsstellen des Glukosestromes in die Blutbahn die Permeabilität erhöht, und das Bilirubin kann mit in die Blutbahn übertreten. BAUMGÄRTEL und TRUMMER (4c) haben diese Permeabilitätsveränderung in einem Modellversuch nachgewiesen.

Auch die Muskeltätigkeit beeinflußt den Serumbilirubinspiegel. Nach WITH (60) kommt es ungefähr 30 Minuten nach Beginn der Muskeltätigkeit zu einem 20 - 40%igem Konzentrationsanstieg des Serumbilirubins. Dieses Phänomen beim Menschen wurde von vielen Forschern beschrieben. Die Tatsache des Serumbilirubinspiegelanstieges bei Muskeltätigkeit weist auf die Glykogenolyse hin, da bei der Muskelarbeit Glykogen abgebaut wird. Der Glykogenabbau bewirkt hier ebenfalls eine Permeabilitätsänderung in den Leberzellen, so daß Bilirubin mit ins Blut übertreten kann.

Das Bilirubin ist im Blut zum größten Teil an das Serumalbumin gebunden, ein geringer Anteil (höchsten 10%) an α-Globuline. WITH (60) vertritt die Meinung, daß an Globin kein Bilirubin gebunden sei.

H.v.d. BERGH und MÜLLER (8) haben 1916 festgestellt, daß einige ikterische Seren die Diazoreaktion ergeben, während andere mit dem Diazoreagenz nicht reagierten. Doch konnte durch Zusatz von Alkohol bei letzteren ebenfalls eine

positive Diazoreaktion erreicht werden. Danach teilte man die Seren in "direkt reagierende" und in "indirekt reagierende" ein. Daraus entwickelten sich die Bezeichnungen "direktes" und "indirektes" Bilirubin. Man hoffte, mit der getrennten Bestimmung der Bilirubinreaktionen auf bestimmte Ikterusformen schließen zu können.

Es hat sich herausgestellt, daß das "direkte" Bilirubin aus "indirektem" Bilirubin unter Mithilfe der Gallensäuren gebildet wird. Fällt die kolloidale Schutzwirkung der Gallensäuren fort, so wandelt sich das "direkte" Bilirubin wieder in "indirektes" um, welches im Blut an das Serumalbumin gebunden ist.

Das "direkte" Bilirubin wird mit dem Urin ausgeschieden und ist bei allen Ikterusformen, außer beim hämolytischen Ikterus, zu finden. Bei den hämolytischen Ikterusformen tritt vermehrt "indirektes" Bilirubin auf.

BAUMGÄRTEL und FILLIBECK (4a) konnten beim Pferd in der Galle keine Gallensäuren nachweisen. Aus diesem Grunde ist es erklärlich, warum beim Pferd bei allen Ikterusformen das "indirekte" Bilirubin überwiegt.

In neuerer Zeit fanden einige Forscher (BILLING und LATHE 1956 (10)), daß das "direkte" Bilirubin Glucuronsäureester des Bilirubins darstellt. Die Japaner YAMAOKA und KOSAKA (61) erkannten 1951, daß das "indirekte" Bilirubin die freie Säureform des Bilirubins darstellt. Es wurde auch nachgewiesen, daß dieses "indirekte" Bilirubin auf Gewebezellen, besonders auf Nervenzellen und auf Bakterienfermente toxisch wirkt. Diese Giftwirkung ist beim sogenannten Kernikterus der Kleinkinder beschrieben, bei dem hohe Werte an "indirektem" Bilirubin auftreten.

Der Übertritt des Serumbilirubins aus den Gefäßen in das umliegende Gewebe und die damit bedingte Gelbfärbung tritt nach BAUMGÄRTEL (3) beim Menschen erst dann ein, wenn der Bilirubinspiegel die 2 mg%-Grenze überschreitet. EIKMEIER (15) fand für das Pferd etwas höhere Werte.Er gibt an, daß ein Ikterus immer erst bei einem Serumbilirubinwert von 3 - 4 mg% auftritt, wobei der hohe Bilirubinwert mehrere Tage im Blut vorhanden sein muß.

Das Serumbilirubin geht erst in die Lymphbahn und dann in das Gewebe über. Es entsteht der manifeste Ikterus. ROSENTHAL (49) fand 1930, daß das Elastin des Menschen besonders bilirubinophil sei. So zeigen die Skleren, die Haut, die Intima der Gefäße und auch das Ligamentum nuchae beim Ikterus eine intensive Gelbfärbung. WITH (60) nimmt an, daß in den Geweben das Elastin die Bindung des Bilirubins von dem Serumalbumin übernimmt.

b) Bestimmungsmethoden des Serumbilirubins

Zur Serumbilirubinbestimmung stehen uns heute eine größere Anzahl an Methoden zur Verfügung. Um die Jahrhundertwende wandte man reine Oxydationsreaktionen zum qualitativen Nachweis des Bilirubins an. Bekannt ist die nach GILBERT modifizierte Gmelin'sche Methode. Das Serum wird über Gilbert'schem Reagenz geschichtet. Dabei kommt es bei Bilirubinanwesenheit zu grün-blauen Farbveränderungen an der Schichtungsstelle. Diese Methode wurde noch 1926 von GRASSNICKEL (19) benutzt.

Erst als es EHRLICH und PRÖSCHER (14) gelang, das Bilirubin mittels der Diazoreaktion qualitativ zu bestimmen und H.v.d. BERGH und J. SNAPPER (7) darauf aufbauend, ein quantitatives Verfahren der Bilirubinbestimmung im Serum entwickelten, konnte man kolorimetrische Messungen des Bilirubins durchführen. Das Prinzip besteht darin, daß die Diazobenzosulfosäure mit Bilirubin eine Verbindung unter Rotfärbung eingeht, die kolorimetrisch ausgewertet werden kann.

Einen großen Nachteil hat die H.v.d. Bergh'sche Methode, weil beim Enteiweißen des Bilirubins mittels Alkohol ein recht beträchtlicher Teil des zu bestimmenden Bilirubins mit dem Eiweißniederschlag mitgerissen wird. Weiterhin zeigte sich bei dieser Art der Bilirubinbestimmung, daß die Vergleichslösungen (Bilirubinstandard) in den Kolorimetern in ihrer Haltbarkeit nicht konstant bleiben. Diese kolorimetrische Methode ist auch sehr subjektiv.

H.v.d. BERGH und MÜLLER (8) fanden durch Zufall 1916 die "direkte" und die "indirekte" Bilirubinbestimmung. Sie stellten fest, daß es im Serum eine kleinere Bilirubinfraktion gibt, die auch ohne Alkoholzusatz die Diazoreaktion mit der Diazobenzosulfosäure ergibt. Diese Bilirubinfraktion nannten sie "direktes" Bilirubin und die Fraktion, die erst nach Alkoholzusatz in die Diazoreaktion eingeht, das "indirekte"Bilirubin.

MEULENGRACHT (37) versuchte 1920 mit einem einfachen Verfahren die Bilirubinbestimmung durchzuführen. Er nutzte

die gelbe Eigenfarbe des Bilirubins im Serum aus. Dadurch wird das Bilirubin selber als Indikator für seine Anwesenheit benutzt und durch Verdünnungen kolorimetrisch bestimmt. Leider hat diese einfache Methode sehr viele Fehlerquellen. Hämoglobin, Karotinoide und künstliche Farbstoffe beeinflussen die Serumeigenfarbe.

Im Jahre 1928 benutzten JENDRASSIK und CZIKE (26) statt des Alkohols Coffeinum natrium-benzoicum als Reaktionsvermittler. Nach Erreichen der endgültigen Farbtiefe wird das Eiweiß mit Alkohol ausgefällt. Da auch JENDRASSIK und CZIKE auf die Eiweißfällung nicht verzichteten, kommt es bei dieser Methode ebenfalls zu Bilirubinverlusten.

WESTPHAL und GEDIGK (58) haben 1948 mit Hilfe der Elektrophorese festgestellt, daß das "direkte" und das "indirekte" Bilirubin stets an Eiweiß gebunden sind, und auch die Diazotierung im Eiweißverband stattfindet. Die Coffeinzugabe bezweckt, daß das Bilirubin und sein Diazofarbstoff vom Eiweiß getrennt werden.

HEILMEYER und KREBS (21) haben das Verfahren von Jendrassik und Czike für das Pulfrich'sche Stufenphotometer umgearbeitet. Das Serum wird hierbei mit einer Salzsäure - Stannochlorid - Lösung versetzt und der auftretende rote Diazofarbstoff kolorimetrisch gemessen.

1937 entwickelte BUNGENBERG de JONG (11) ein Verfahren, bei dem nach Halbsättigung mit Ammonsulfat das gesamte Azobilirubin mit den Globulinen ausgefällt wird. Nach Zugabe von Alkohol geht das Azobilirubin dann wieder in Lösung. Das Verfahren wird heute kaum benutzt, da es zu umständlich ist.

Die heutigen Bilirubinbestimmungen stützen sich meistens auf die von JENDRASSIK und CLEGHORN (25) bzw. von JENDRASSIK und GROF (27) entwickelten Verfahren, die eine gute Modifizierung der H.v.d. BERGH'schen Methode darstellen. JENDRASSIK und CLEGHORN und JENDRASSIK und GROF vermeiden in ihren Methoden die Eiweißfällung, bei der große Bilirubinverluste auftreten, und setzen als Reaktionsvermittler Coffein und Natriumbenzoat zu. Das Bilirubin wird hierbei in rotes Azobilirubin umgewandelt. Bei JENDRASSIK und

CLEGHORN muß man die photometrische Messung noch mit zwei Filtern durchführen, was aber durch die verbesserte Methode nach JENDRASSIK und GROF nicht mehr nötig ist. Hier genügt ein Farbfilter. Die Vereinfachung der Bilirubinbestimmung wird dadurch erreicht, daß die Diazotierung nach einer bestimmten Zeit durch Zugabe von alkalischer Fehling'scher Lösung II gestoppt wird. Das Azobilirubin wird dabei in einen grün-blauen Farbstoff überführt. Die beiden letztgenannten Methoden dienen nur zur Messung des Gesamtbilirubins.

JENDRASSIK und CLEGHORN (25) entwickelten deshalb auch eine Methode zur Bestimmung des "direkten" Bilirubins. Subtrahiert man das erhaltene "direkte" Bilirubin vom Gesamtbilirubin, so erhält man das "indirekte" Bilirubin. Bei der Bestimmung des "direkten" Bilirubins lassen JENDRASSIK und CLEGHORN das Coffein-Natriumbenzoat weg und geben dafür die gleiche Menge physiologische Kochsalzlösung zu.

WITH (60) änderte 1943 dieses Verfahren im Sinne des Jendrassik' und Grof'schen Verfahrens ab. Er benutzt ebenfalls die Fehling'sche Lösung II und stoppt dadurch nach einer bestimmten Zeit die Diazotierung.

MALLOY und EVELYN (33) entwickelten 1937 ebenfalls eine Bilirubinbestimmungsmethode ohne Eiweißfällung. Sie benutzten Methanol als Reaktionsvermittler und verdünnten das Serum sehr stark (1:25). Dieses Verfahren hat bei Seren mit niedrigen Bilirubinwerten Nachteile, da bei der Verdünnung Trübungen auftreten. Das Malloy'und Evelyn'sche Verfahren hat trotzdem, besonders in den USA, eine starke Verbreitung erfahren.

MONKE (40) ersetzte 1952 in den Bilirubinbestimmungsmethoden nach JENDRASSIK und CLEGHORN bzw. nach JENDRASSIK und GROF das als Katalysator wirkende Coffein durch eine Salyrganmischung. Er fand beim Menschen annähernd gleiche Werte bei der Bilirubinbestimmung mit Coffein wie auch mit der Salyrganmischung.

c) Bilirubinbestimmungen bei Pferden

Seit ungefähr 50 Jahren werden bei Pferden Bilirubinbestimmungen im Blutserum durchgeführt. Eine ausführliche tabellarische Zusammenfassung der bisher gefundenen Bilirubinwerte mit Angabe der Bestimmungsmethoden ist am Ende dieses Kapitels aufgezeichnet.

Als erster fand 1875 HAMMARSTEN (20) bei Pferden Bilirubin im Blutserum. Er entwickelte auch eine einfache Bestimmungsmethode. Hammarsten gab dem Serum Essigsäure zu und verdünnte dann mit Wasser. Dabei kommt es zur Ausfällung von Paraglobulin, welches das Bilirubin mitreißt. Mit dieser Methode erhielt Hammarsten reine Bilirubinkristalle. Er behauptete auch, daß die Serumfarbe vom Gehalt an Bilirubin abhänge.

Im Jahre 1906 war es BIERTHEN (9), der die Untersuchungen HAMMARSTENS bei Pferden voll und ganz bestätigte. BIERTHEN fand jedoch weder in der Galle noch im Harn der Pferde Bilirubin.

Hijmans van den BERGH (zit.n.DÖRING (13)) fand 1918 in Pferdeseren einen Bilirubingehalt von 0,3 - 0,4 mg%.

Erst 1926 wurden von GRASSNICKEL (19) wieder Bilirubinbestimmungen bei Pferden durchgeführt. Er benutzte zwei Methoden:

1. Methode nach H.v.d. BERGH mit Alkoholfällung
2. Methode nach MEULENGRACHT.

Es kamen 58 gesunde Pferde zwischen 4 und 25 Jahren zur Untersuchung. Die Bilirubinwerte nach der 1. Methode lagen zwischen 1,94 und 3,14 mg%. Weiterhin wurden 12 Schlachtpferde im Alter von 18 bis 25 Jahren nach einer längeren Eisenbahnfahrt untersucht. Sämtliche Schlachtpferde waren stark abgemagert und schlecht im Haarkleid. Der Bilirubingehalt des Serums schwankte zwischen 3,18 und 7,12 mg%.

CHRUSTALEV (12) fand 1929 bei 50 gesunden Pferden einen Serumbilirubinspiegel von 0,37 - 2,8 mg%. Der Durchschnittswert lag bei 1,1 mg%.

1930 beschäftigte sich GRASSNICKEL (19a) mit der Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoffgaben. Er stellte

bei 15 Pferden fest, daß nach Tetrachlorkohlenstoffgaben der Serumbilirubinwert um das 1,2 bis 4-fache anstieg.

Der Franzose ZENGLEIN (62) untersuchte ebenfalls Pferdeserum auf Bilirubingehalt und fand einen Durchschnittswert von 8,35 mg%.

Ein Jahr später wertete LOHRAFF (31) den Bilirubinspiegel bei an Blinddarmverstopfung erkrankten Pferden aus. Er untersuchte 53 Tiere und fand, daß bei Blinddarmverstopfungen der Bilirubinwert um das 1,5 bis 5,5-fache des Normalen anstieg. Die Höhe des Serumbilirubinspiegels schien dabei mit der Schwere der Erkrankung im Zusammenhang zu stehen. Mit Rückgang der Verstopfung fiel auch der Bilirubinspiegel. Die Bilirubinerhöhung hängt nach LOHRAFF mit dem gefüllten Blinddarmkopf zusammen, der wohl einen Druck auf die Leber ausübe und dadurch die Gallenkapillaren verschließe, so daß die Galle in das Blut übergeht.

Im selben Jahr untersuchte REICHARDT (48) 100 gesunde Militärpferde und fand Bilirubinwerte von 0,82 bis 1,97 mg%. Er ist der Meinung, daß die Bilirubinwerte GRASSNICKELS für gesunde Pferde zu hoch seien.

ZINK (63) fand dagegen 1932 bei gesunden Pferden im Serum Gallerfarbstoffwerte zwischen 1,28 und 2,28 mg%. Mehrtägiger Nahrungsentzug erhöhte die Serumbilirubinwerte erheblich. Erhöhte Werte zeigten Schlachtpferde mit 2,0 bis 4,0 mg%.

GEBAUER (18) untersuchte den Blutbilirubinspiegel bei fieberhaften Erkrankungen der Pferde. Sie fand, daß die Körpertemperatur keinen Einfluß auf die Höhe der Bilirubinwerte habe. Sie stellte bei ein und derselben fieberhaften Erkrankung nur bei einem Teil (50%) der Pferde einen Bilirubinanstieg im Serum fest. GEBAUER ist der Meinung, daß es für einen Bilirubinanstieg ausschlaggebend sei, ob die Leber bei einer Erkrankung des Pferdes durch toxische Schädigung in Mitleidenschaft gezogen wird.

MEYER (38) untersuchte die Bilirubinserumwerte bei 29 Klinik- und 21 Schlachtpferden. Er benutzte ebenso wie die oben genannten Autoren ein Hellige - Colorimeter nach H.v.d. BERGH.

MEYER fand bei in der Klinik eingestellten Pferden Bilirubinwerte zwischen 1,00 und 7,5 mg%. Bei 12 gesunden Pferden erhielt er einen Bilirubindurchschnittswert von 1,966 mg%. Pferde mit Kolik hatten sehr hohe Werte, und bei Schlachtpferden schwankte der Bilirubinspiegel zwischen 1,0 und 4,5 mg%. Da zur Schlachtung nur ältere Pferde kamen, folgerte er daraus, daß bei zunehmendem Alter der Bilirubingehalt des Blutes steige.

HÖLTING (23) untersuchte den Bilirubinspiegel bei Kolikern nach Anwendung verschiedener Abführmittel. Seiner Meinung nach soll der Bilirubinspiegel um so höher steigen, je länger eine Kolik dauere und je heftiger sie sei.

Auch NABHOLZ (42) führte quantitative Bilirubinbestimmungen durch. Er fand beim Pferd Durchschnittswerte von 0,55 bis 1,55 mg%, als Mittelwert 0,97 mg%.

1939 untersuchte NATSCHEFF (43): 53 Pferdeseren nach der Methode von JENDRASSIK und CZIKE (26), in der Modifizierung von HEILMEYER und KREBS (21) für das Pulfrich'sche Stufenphotometer, und fand Bilirubinwerte von 0,5 bis 2,12 mg%. Der Mittelwert betrug 1,24 mg%.

Ein Jahr später führte DÖRING (13) Bilirubinbestimmungen nach den Methoden von H.v.d. BERGH (6), THANNHAUSER und ANDERSEN (54) und von JENDRASSIK und CZIKE (26) durch. Die niedrigsten Werte erhielt er mit der H.v.d. Bergh'schen Methode. Bei 13 gesunden Pferden lagen die Bilirubinwerte zwischen 0,5 und 1,0 mg%, als Mittelwert 0,72 mg%. Die Methode nach JENDRASSIK und CZIKE hat DÖRING insoweit abgeändert, als er statt der bei JENDRASSIK und CZIKE angegebenen Diazomischung von Diazo I + Diazo II = 10,0 ml + 1,0 ml die Diazomischung von H.v.d. BERGH mit Diazo I + Diazo II = 10,0 ml + 3,0 ml benutzte. Die hierbei erhaltenen Bilirubinwerte liegen zwischen 0,76 und 1,55 mg% mit einem Mittelwert von 1,16 mg%. DÖRING fand bei Pferden mit fieberhaften Erkrankungen (Pneumonie, Brustseuche, infekt.Katarrh der oberen Luftwege) und bei Anschoppungskoliken (Blinddarm und Colon) einen stark erhöhten Bilirubinspiegel. Weiterhin stellte er fest, daß nicht immer bei erhöhtem Bilirubinspiegel auch eine Gelbfärbung der Konjunktiven auftrat. Erwähnenswert sei noch, daß er bei allen untersuchten Pferden im Serum Bilirubin

feststellte.

Einen Bilirubingehalt von 0,5 bis 3,0 mg% fanden 1941 ROYER, CHIARAVALLE und ARAMBURU (51) (zit.n.WITH (60)) bei gesunden Pferden.

VILCHES (55) untersuchte 1949 100 englische Pferde auf Serumbilirubin nach der Methode von MALLOY und EVELYN (33). Er fand im Mittel ein Gesamtbilirubin von 0,975 mg%. Das "direkte" Bilirubin betrug im Durchschnitt 0,72 mg%.

PÖPPINGHAUS (47) benutzte 1950 zur Bilirubinbestimmung die von DÖRING (13) modifizierte Methode nach JENDRASSIK und CZIKE (25). Er untersuchte 20 gesunde Pferde und fand in jedem Falle Serumbilirubin. Die Werte schwankten zwischen 0,3 und 2,2 mg%, bei einem Mittelwert von 1,54 mg%. Er untersuchte auch 21 Pferde mit Erkrankungen des Magen-Darm-Kanals. Im Serum dieser Tiere fand er Bilirubinwerte von 0,8 bis 2,8 mg%, im Mittel waren es 1,84 mg%. PÖPPINGHAUS untersuchte auch bei allen Pferden den Bilirubingehalt des Bauchpunktates, wobei er feststellte, daß bei Erkrankung der Bilirubinwert des Punktates sich dem Wert des Serums annähere. Mit zunehmender Schwere der Erkrankung und bei Koliken trete dies besonders auffällig zum Vorschein. Er vertritt die Meinung, daß die Bestimmung des Bilirubins im Bauchpunktat in Verbindung mit dem Bilirubinwert des Serums ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel zur Klärung der Prognose sei.

NEUMANN-KLEINPAUL, ZELLER und JAKOB (45) untersuchten bei 3 Pferden den Serumbilirubinspiegel bei einseitiger Haferfütterung nach der Methode von JENDRASSIK und GROF. Die Pferde hatten während 14 Tagen einen Mittelwert von 1,09, 0,88 bzw. 1,73 mg% Bilirubin. Nachdem sie 8 Tage nur mit Hafer gefüttert worden waren, ließ die Freßlust nach. Nach 3 Wochen nahmen die Pferde kaum noch Hafer auf. Die Tiere bekamen einen Magen-Darm-Katarrh. Der Serumbilirubinspiegel stieg bis zum 27. Tag auf 1,84, 3,62 bzw. 2,83 mg%. Nach nun einsetzender Normalfütterung fiel der Blutbilirubingehalt in 15 Tagen auf 1,04, 0,89 bzw. 1,68 mg%. Die Autoren sind der Meinung, daß der Serumbilirubinanstieg mit dem Magen-Darm-Katarrh zusammenhänge.

1956 untersuchte APPEL (1) den Serumbilirubinspiegel bei 10 gesunden Pferden nach der Methode von JENDRASSIK und GROF (27). Beim "indirekten" Bilirubin fand er Schwankungen zwischen 0,8 und 1,4 mg%. Die für das "direkte" Bilirubin bestimmten Werte lagen zwischen 0,45 und 0,65 mg%.

BERGER (5) bestimmte 1956 das "direkte" und das "indirekte" Bilirubin bei Nutz- und Schlachtpferden. Für das Gesamtbilirubin wurde die Methode nach JENDRASSIK und GROF (27) und für das "direkte" Bilirubin die Methode nach JENDRASSIK und CLEGHORN (25) in der Fassung nach WITH (60) benutzt. Bilirubin wurde bei allen untersuchten Pferden festgestellt. BERGER untersuchte das Serum von 50 Pferden und Fohlen. Die Fohlen (bis 1,5 Jahre) hatten im Mittel 2,3 mg% Gesamtbilirubin. Der Mittelwert des "direkten" Bilirubins betrug 1,1 mg%. Nutzpferde hatten einen Mittelwert an Gesamtbilirubin von 1,1 mg% und an "direktem" Bilirubin von 0,5 mg%. Bei Schlachttieren, die kaum gehungert hatten, fanden sich im Mittel 1,6 mg% Gesamtbilirubin und 0,9 mg% "direktes" Bilirubin im Serum. BERGER stellte fest, daß schon ein Nahrungsentzug von 1 bis 2 Tagen eine Erhöhung des Serumbilirubins ergibt.

Im selben Jahr bestimmten SCHMIDT und MATTHIAS (52) bei 81 Pferden mit infektiöser Anämie die Bilirubinwerte im Serum. Sie benutzten die Methode nach JENDRASSIK und GROF in der Änderung von MONKE (40). Sie fanden keine Erhöhung der Serumbilirubinwerte. Zugleich untersuchten SCHMIDT und MATTHIAS 23 klinisch gesunde Pferde und erhielten einen Mittelwert von 1,45 mg% Bilirubin. Nach der intravenösen Infusion von 1000,0 ccm Aqua dest. innerhalb von 2 Minuten bei 5 Pferden stieg der Serumbilirubinspiegel in 6 Stunden von 1,0 auf 3,5 mg%. Nach 24 Stunden sank der Bilirubinwert wieder bis fast auf die Ausgangswerte ab. Daraus ergibt sich, daß das durch den intravasalen Zerfall der Erytrocyten freiwerdende Hämoglobin zu Bilirubin umgewandelt wird.

1957 untersuchte FORENBACHER (17) mit Hilfe der Diazoreaktion Pferde mit gesunder und kranker Leber. Bei Lebererkrankungen soll das "indirekte" Bilirubin meistens ansteigen, in akuten Fällen sogar um das 35-fache. Bei Leberatrophie und parenchymatöser Leberentzündung soll

dagegen das "direkte" Bilirubin ansteigen.

KLAUS (28) stellte 1958 Untersuchungen über das Verhalten des Serumbilirubins bei 38 Pferden an. Die Gesamtbilirubinbestimmung wurde nach JENDRASSIK und GROF (27) und das "direkte" Bilirubin nach der Methode von JENDRASSIK und CLEGHORN in der Modifikation nach WITH (60) ausgeführt. Er fand in allen Fällen Gesamtbilirubin und auch "direktes" Bilirubin. Der Anteil des "indirekten" Bilirubins war immer größer als der des "direkten". Bei hungernden Pferden stellte KLAUS einen Anstieg der Serumbilirubinwerte fest.
Bei 33 gesunden Pferden lag das Gesamtbilirubin zwischen 0,58 und 1,48 mg%, im Mittel waren es 0,99 mg%. Das "direkte" Bilirubin hatte Werte von 0,02 bis 0,30 mg% mit einem Durchschnittswert von 0,15 mg%.
Drei neugeborene Fohlen wurden ebenfalls auf Serumbilirubin untersucht. In den ersten 2 bis 3 Tagen zeigte sich ein Anstieg des "direkten" und des "indirekten" Bilirubins. Nach 5 bis 6 Tagen ging die Bilirubinerhöhung auf Normalwerte zurück. Damit wies KLAUS nach, daß auch bei Fohlen ein Ikterus neonatorum auftritt.

KLAUS und MATTHIAS (29) bestimmten den Serumbilirubinspiegel bei Pferden mit Borna'scher Krankheit. Bei 19 Pferden wurde ein Gesamtbilirubinwert von 1,65 bis 5,71 mg%, im Mittel 2,73 mg% festgestellt. Die Werte des "direkten" Bilirubins lagen zwischen 0,02 und 1,38 mg%.
KLAUS und MATTHIAS fanden keinen Zusammenhang zwischen der Höhe des Serumbilirubins und den ikterischen Schleimhautverfärbungen.
Wenn bei den erkrankten Tieren eine Futterverweigerung eintrat, so konnte man bereits nach 6 Stunden eine Bilirubinerhöhung im Serum feststellen. Nach Einsetzen der Futteraufnahme trat ein Abfall des Bilirubinspiegels ein. KLAUS und MATTHIAS ließen daher 5 gesunde Pferde 3 bis 4 Tage hungern. Der Serumbilirubinspiegel stieg nach 3 bis 6 Stunden an und war am 3. Tag bei einem Tier auf 4,8 mg% gestiegen. Die Konjunktiven verfärbten sich erst vom 2. bis 3. Tag an. Nach einsetzender Fütterung ging nach 6 Stunden der Bilirubingehalt im Serum zurück und hatte nach zwei Tagen die Normalwerte wieder erreicht.

Da bei den Pferden mit Borna'scher Krankheit eine deutliche Beziehung des Bilirubinanstieges zur Futteraufnahme besteht, so ist der Bilirubinanstieg nur als unspezifische Reaktion zu werten. KLAUS und MATTHIAS behaupten, daß der Überschuß der ununterbrochen produzierten Galle beim Pferd in die Blutbahn abgegeben werde, weil das Pferd keine Gallenblase als Reservoir besitzt. Dieser Vorgang spiele sich ohne wesentliche Störungen des Organismus ab. Da bei allen kranken Tieren meist eine Futterverweigerung eintrete, so käme es auch zu einem Bilirubinanstieg im Serum. Deshalb sei die Bilirubinbestimmung in der Diagnostik bei kranken Pferden sehr fraglich.

EIKMEIER (15) untersuchte bei einer größeren Pferdeanzahl den Serumbilirubinspiegel nach der Methode von JENDRASSIK und GROF (27) für das Gesamtbilirubin und nach der Methode von JENDRASSIK und CLEGHORN in der Fassung von WITH (60) für das "direkte" Bilirubin. Bei 161 gesunden Pferden schwankte der Gesamtbilirubinspiegel zwischen 0,7 3,1 mg%. Der Mittelwert lag bei 1,9 mg%. Beim "direkten" Bilirubin betrug der Mittelwert 0,8 mg%. Bei 134 Pferden ohne Gelbfärbung der Konjunktiven fand EIKMEIER einen Gesamtbilirubinmittelwert von 1,94 mg%. Das "direkte"Bilirubin betrug im Mittel 0,87 mg%. Bei 107 Pferden mit Gelbfärbung der Skleren und Konjunktiven erhielt er für das Gesamtbilirubin einen Durchschnittswert von 1,87 mg%. Der Mittelwert des "direkten" Bilirubins lag bei 0,75 mg%. Durch diese Untersuchung wird gezeigt, daß eine Gelbfärbung der Schleimhäute die Diagnose einer Leberschädigung bzw. einer Störung im Bilirubinstoffwechsel nicht erlaubt. EIKMEIER ist der Meinung, daß Bilirubinwerte über 3,0 mg% verdächtig sind und, daß Werte über 4,0 mg% sicher pathologisch seien. Ein Ikterus sei dann auch immer vorhanden. Er fand, daß das "indirekte" Bilirubin bei gesunden Pferden immer überwiege.

HEMPEL (22) bestimmte 1960 bei 47 Pferden das Gesamtbilirubin nach den Methoden von HEILMEYER und JENDRASSIK und GROF. Für das "direkte" Bilirubin benutzte er die Methode nach JENDRASSIK und GROF. Nach der Heilmeyer'schen

Methode wurden im Durchschnitt 1,9 mg% Gesamtbilirubin im Serum gefunden. Die Schwankungsbreite lag zwischen 0,9 und 3,3 mg%. Nach der Methode von Jendrassik und Grof wurden 1,78 mg% Gesamtbilirubin als Mittelwert errechnet, wobei Werte von 0,72 bis 3,29 mg% bestimmt wurden. Das "direkte" Bilirubin lag bei 22 Pferden zwischen 0,20 und 1,64 mg% mit einem Mittelwert von 0,83 mg%.
HEMPEL stellte keinen Unterschied zwischen den Bilirubinwerten von Warm- und Kaltblutpferden fest. Der Bilirubinspiegel war auch unabhängig vom Alter der Pferde, und das "indirekte" Bilirubin überwog bei allen Untersuchungen.

Tabelle der bisherigen Serumbilirubinbestimmungen bei Pferden unter Angabe der dabei benutzten Bestimmungsmethoden. (Bilirubinangaben in mg%)

Autor	Jahr	Bestimmungs-methode	Nutztiere ges.Bilir.	Nutztiere direkt.Bilir.	An-zahl	Schlachttiere ges.Bilir.	Schlachttiere Dir.Bilir.	An-zahl	Bemerkungen
H. v. d.Bergh	1918	nach H.v.d.Bergh	0,3-0,4						
Grassnickel	1926	1. nach Bergh	1,94-3,14		58	3,18-7,12		12	Nutztiere 4-25jährig
		2. " Meulengracht	Plasmazahl 5 bis 14			Plasmazahl 15 bis 28			Schlachtpferde 18-25 "
Chrustalev	1929	nach H.v.d.Bergh	0,37-2,8		50				
Zenglein	1930	?	(8,35)						
Reichardt	1931	" H.v.d.Bergh	0,82-1,97		100				Militärpferde
Zink	1932	" " "	1,28-2,28			2,0-4,0			gesunde Pferde
Meyer	1938	" " "	1,0-7,0		29	1,0-4,5		21	29 = in der Klinik eingestellte Pferde
			(1,966)		12				12 = gesunde Pferde
Nabholz	1938	" " "	0,55-1,55						
			(0,97)						
Natscheff	1939	n.Jendrassik u.Czike, modifiziert nach Heilmeyer u.Krebs	0,5- 2,12		53				
			(1,24)						
Döring	1940	1.nach H.v.d.Bergh	0,5-1,0		13				
			(0,72)						
		2. " Jendrassik u. Czike,modifiziert n.Döring	0,76-1,55		13				
			(1,16)						
Royer,Chiaravalle und Aramburu	1941	?	0,5-3,0						
Vilches	1949	n. Malloy u.Evelyn	(0,975)	(0,72)	100				englische Pferde
Pöppinghaus	1950	n.Jendrassik u.Czike, modifiziert n.Döring	0,3-2,2		20				gesunde Pferde
			(1,54)						
			0,8-2,8						Pferde mit Erkrankungen des Magen-Darm-Kanals
			(1,84)		21				

Autor	Jahr	Bestimmungs-methode	Nutztiere ges. Bilir.	Nutztiere direkt. Bilir.	An-zahl	Schlachttiere ges. Bilir.	Schlachttiere dir. Bilir.	An-zahl	Bemerkungen
Neumann-Kleinpaul, Zeller und Jacob	1954	Jendrassik u. Grof	(1.23)		3				
Appel	1956	" "	1,25-2,0	0,45-0,65	10				gesunde Pferde
Berger	1956	1. " "	(1,1)			(1,6)			insgesamt
		2. " u. Cleghorn nach With	(2.3)	(0,5) (1.1)			(0,9)		50 Pferde Fohlen
Schmidt u. Matthias	1956	Jendrassik u. Grof modifiziert nach Monke	(1,45)		23				
Klaus	1958	1. Jendrassik u. Grof	0,58-1,48 (0,99)						
		2. " u. Cleghorn nach With		0,02-0,30 (0,15	33				
Klaus u. Matthias	1958	1. Jendrassik u. Grof	1,65-5,11 (2,73)						Die Pferde waren alle mit Borna-Virus infiziert
		2. " u. Cleghorn nach With		0,02-1,38	19				
Eikmeier	1959	1. Jendrassik u. Grof	0,7-3,1 (1,9)						
		2. " u. Cleghorn nach With		(0,8)	161				
Hempel	1960	1. Heilmeyer	0,9-3,3 (1,9)		47				
		2. Jendrassik u. Grof	0,72-3,29 (1,78)						
		3. " " "		0,20-1,64 (0,83)	22				

Die Bilirubinwerte in Klammern (-) geben die Mittelwerte an.

III. Eigene Untersuchungen:

1. Methodik

Zur Bestimmung des Gesamtbilirubins im Blutserum wurde die Methode nach JENDRASSIK und GROF (27) benutzt. Das Bilirubin wird durch diazotierte Sulfanilsäure unter katalytischer Wirkung des Coffeins in rotes Azobilirubin übergeführt. Es entsteht eine dem Bilirubingehalt des Serums entsprechende Rotfärbung des Gemisches.
Die photometrischen Messungen wurden mit dem Elektrophotometer "Elco II" der Firma Carl Zeiss nach dem in dem Heft "Klinische Photometrie" von Zeiss - Opton angegebenem Verfahren durchgeführt. Es wurde das Farbfilter S 53 = 530 μ benutzt.
Außerdem wurde bei den Untersuchungen an hungernden Pferden noch als 2. Methode zur Gesamtbilirubinbestimmung das Verfahren nach JENDRASSIK und GROF in der Modifizierung von WITH (60) verwandt. Das Serum - Diazo - Gemisch wurde nach einer bestimmten Zeit in seiner Diazotierung durch Zugabe von Fehling II-Lösung gestoppt. Die Messungen wurden dann mit dem Farbfilter S 59E = 588 μ durchgeführt.

Das "direkte" Bilirubin wurde nach der Methode von JENDRASSIK und CLEGHORN (25) bestimmt. Hierbei wurde die Coffeinmischung durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt.

Als Reagentien wurden zur Herstellung der Lösungen gebraucht:

1. Coffeinmischung	: Coffein	20,0	g
	Natriumbenzoat	30,0	g
	Natriumacetat	50,0	g
	Aqua dest. ad	400,0	ml
	(unter gelindem Erwärmen lösen)		
2. Diazogemisch	: bestehend aus		
	Diazo I	10,0	ml
	und Diazo II	0,25	ml

Das Diazogemisch wird täglich frisch angesetzt, da es nur wenige Stunden haltbar ist.

a) Diazo I :	Sulfanilsäure	5,0	g
	konz. Salzsäure	15,0	ml
	Aqua dest. ad	1000,0	ml
b) Diazo II :	Natriumnitrit	0,5	g
	Aqua dest. ad	100,0	ml

3. Fehling II-Lösung :	Kalium-Natriumtartrat	35,0	g
	Natriumhydroxyd	10,0	g
	Aqua dest. ad	100,0	ml

4. 0,9 %ige Natriumchloridlösung

Zur Durchführung der Untersuchung auf Gesamtbilirubin wurden in einem Reagenzglas 1,0 ml Serum mit 3,5 ml Coffeinmischung und 0,5 ml Diazogemisch versetzt. Als Kompensationslösung diente eine Mischung aus 1,0 ml Serum, 3,5 ml Coffeinmischung und 0,5 ml Aqua destillata. Fünf Minuten nach Ansetzen des Gemisches wurde es in sehr sauberen Küvetten von 1 cm Schichtdicke mit dem Filter S 53 gegen die genannte Kompensationslösung gemessen. Die Berechnung des Gesamtbilirubins erfolgte nach der Formel
$c = (6{,}34 \times k - 0{,}05)$ mg Bilirubin in 100 ml Serum.

Der Extinktionskoeffizient k ist die auf Küvettenschichtdicke reduzierte Extinktion.
Die Extinktion ist der Logarithmus des Verhältnisses der Durchlässigkeit der hellen zu der dunklen Probe.

Zur Bestimmung des "direkten" Bilirubins wurden 1,0 ml Serum mit 3,5 ml NaCl-Lösung und 0,5 ml Diazogemisch versetzt. Fünf Minuten danach wurde gegen die gleiche Kompensationslösung gemessen, die auch bei der Bestimmung des Gesamtbilirubins zur Anwendung kam. Das Filter S 53 wurde ebenfalls benutzt. Die Berechnung erfolgte nach derselben Formel wie beim Gesamtbilirubin.

Die bei den Hungerversuchen zusätzlich benutzte Methode zur Gesamtbilirubinbestimmung wurde wie folgt angesetzt:

1,0 ml Serum wurden mit 2,0 ml Coffeinmischung und 0,5 ml Diazogemisch versetzt. Nach genau 10 Minuten wurden 1,5 ml Fehling II-Lösung zugegeben. Als Kompensationslösung diente ein Gemisch von 1,0 ml Serum, 2,0 ml Coffeinmischung und 0,5 ml Aqua destillata. Diesem Gemisch gibt man gleichfalls nach 10 Minuten 1,5 ml Fehling II-Lösung zu. Fünf Minuten nach Zugabe der Fehling'schen Lösung wurden beide Gemische im Elco mit dem Filter S 59E bei einer Küvettenschichtdicke von 1 cm gegeneinander gemessen. Das Bilirubin errechnete sich nach der Formel
c = 5,24 x k mg Gesamtbilirubin in 100 ml Serum.

Der Serumgehalt an "indirektem" Bilirubin ergab sich aus der Differenz zwischen Gesamtbilirubin und "direktem" Bilirubin.

Als Versuchsmaterial wurden klinisch gesunde Pferde ausgesucht oder Pferde, deren Erkrankungen in keinem Zusammenhang mit dem Bilirubinstoffwechsel standen.

Das bei den Pferden aus der Vena jugularis gewonnene Blut wurde für 24 Stunden in den Kühlschrank gestellt. Das Serum wurde dann abpipettiert und für die Untersuchungen verwendet. Hämolytische Seren wurden immer verworfen. Bei den Bilirubinbestimmungen wurden immer zwei Serum-Diazo-Gemische angesetzt, die jeweils mindestens zweimal photometrisch gemessen wurden.

Zu erwähnen ist noch, daß die Blutentnahmen immer zu einer bestimmten Zeit erfolgten, um die Tagesschwankungen des Bilirubins auszuschalten. Die Blutproben wurden jeweils vormittags gegen 9.00 Uhr entnommen.

2.a) Bestimmung des Gesamtbilirubins bei klinisch gesunden Pferden

Es wurden 50 Pferde untersucht. Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle I auf Seite 29 zusammengefaßt.

Das Gesamtbilirubin schwankte zwischen den Werten von 0,985 und 3,463 mg/100ml Serum.
Der Mittelwert betrug 1,796 mg%.
Zwischen 1,05 und 2,10 mg% lagen 38 Werte = 76 %. Über dem Mittelwert lagen 19 und unter dem Mittelwert 31 der Gesamtbilirubinwerte. Bei einer zweimaligen Messung aller Werte kam es im Durchschnitt zu einer Abweichung von ± 0,044 mg%. Somit schwankte der Mittelwert aller Messungen zwischen 1,752 und 1,840 mg% Gesamtbilirubin.

Eine Abhängigkeit des Gesamtbilirubinspiegels vom Alter der Tiere war nur bei Pferden bis zu 2 Jahren festzustellen. Sechs Pferde bis zu 2 Jahren hatten einen Mittelwert von 1,515 mg%. Die Pferde zwischen 2 und 12 Jahren hatten einen leicht über dem Mittelwert liegenden Bilirubinspiegel. Bei 7 Pferden über 12 Jahren betrug der Gesamtbilirubinwert 1,841 mg%. Er lag damit ebenfalls etwas über dem Bilirubinwert aller Pferde.

Gleichzeitig wurden Untersuchungen über die Veränderungen des Bilirubinspiegels im Serum während der Aufbewahrung im Kühlschrank durchgeführt. Die Seren wurden bis zu 264 Stunden nach der Blutentnahme zwei - bzw. dreimal auf ihren Bilirubingehalt untersucht. Bei 15 Pferden (siehe Tabelle II) lag beim Gesamtbilirubin die Durchschnittsdifferenz bei ± 0,0368 mg%. Die festgestellte Differenz von 0.037 mg% entspricht in ihrer Größe dem Wert der Abweichung bei doppelten Messungen des Gesamtbilirubins.

Die Untersuchungen von BOUTARIC und ROY (zit.n.With) und WITH (60), nach denen man Seren bis zu 14 Tagen kühl und dunkel stehen lassen kann, ohne daß es zu Veränderungen der Bilirubinwerte in den Seren kommt, konnten damit bestätigt werden.

b) Bestimmung des "direkten" Bilirubins bei klinisch gesunden Pferden

Die Messung des "direkten" Bilirubins wurde gleichzeitig mit der Bestimmung des Gesamtbilirubins durchgeführt. Es wurden dieselben 50 Pferde untersucht.

Es ergab sich für das "direkte" Bilirubin eine Schwankungsbreite von 0,000 bis 0,393 mg/100 ml Serum. Der Mittelwert lag bei 0,109 mg%.
Zwischen 0,03 und 0,18 mg% lagen 45 von 50 Werten, also 90% der Bilirubinwerte. Den Durchschnittswert überstiegen 21 Werte, 29 lagen darunter. Bei einem Pferd (Nr. 15 in Tabelle I) wurde kein "direktes" Bilirubin gefunden. Bei einer zweimaligen Messung aller Werte trat im Mittel eine Differenz von 0,021 mg% Bilirubin auf. Der Mittelwert des "direkten" Bilirubins lag somit im Bereich von 0,088 bis 0,130 mg%.

Bei den Pferden bis zu 2 Jahren ergaben die Ergebnisse einen Durchschnittswert an "direktem" Bilirubin, der unter dem Mittelwert aller untersuchten Pferde lag. Der Mittelwert von 6 jungen Pferden lag bei 0,0798 mg%. Das "direkte" Bilirubin der älteren Pferde lag dicht am allgemeinen Durchschnittswert.

Auch das "direkte" Bilirubin wurde auf seine Haltbarkeit in den Seren geprüft. Die im Kühlschrank aufbewahrten Seren von 15 Pferden (Tab.II) wurden zum Teil bis zu 264 Stunden nachgeprüft. Die Durchschnittsdifferenz der Messungen lag bei $\pm$ 0,016 mg% Bilirubin. Somit traten auch beim "direkten" Bilirubin nach mehrtägiger Lagerung der Seren keine Mengenverluste auf.

Tabelle I

Bestimmungsmittelwerte des Gesamtbilirubins und des "direkten" Bilirubins bei 50 Pferden in mg%

Nr.	Tgbch.Nr.	Jahres-alter	Gesamt-Bilirubin	"direktes" Bilirubin	Diagnose
1	83/59	8	1,095	0,071	Hufverletzung
2	90/59	4	1,627	0,127	o.B.
3	87/59	1	0,985	0,054	o.B.
4	61/59	2	2,518	0,039	Partus
5	29/59	4	1.535	0,102	Gleichbeinfraktur
6	99/59	7	2,581	0,140	Tendovaginitis in Heilung
7	Versuchspfd.	11	1,697	0,106	o.B.
8	101/59	7	2,010	0,112	Fesselgelenkwunde
9	104/59	7	3,463	0,179	Spat
10	Versuchspfd.	10	1,435	0,093	o.B.
11	109/59	3	1,502	0,129	Kastration
12	106/59	5	1,821	0,112	Hufleder-hautnekrose abgeheilt
13	98/59	4	1,760	0,118	o.B.
14	111/59	8	1,652	0,105	o.B.
15	112/59	10	1,281	0,000	Schmutzekzem
16	115/59	6	1,982	0,133	o.B.
17	117/59	3	1,344	0,021	Zahnspitzen
18	119/59	7	1,294	0,045	Kehlkopfpfeifen
19	118/59	3	1,310	0,048	o.B.
20	120/59	2	2,427	0,160	Castrandus
21	124/59	4	1,756	0,099	Katarrh der oberen Luftwege
22	127/59	1	1,421	0,096	Hernia umbilicalis
23	130/59	5	2,079	0,140	o.B.
24	Versuchspfd.ca	18	2,547	0,125	o.B.
25	139/59	10	3.272	0,393	Pneumonie ausgeheilt
26	145/59	2	1,182	0,063	Katarrh d.ob. Luftwege
27	144/59	3	1,240	0,065	" " "
28	141/59	7	2,936	0,114	Tendinitis und Fesselgelenkschale

Nr.	Tgbch.Nr.	Jahres-alter	Gesamt-Bilirubin	"direktes" Bilirubin	Diagnose
29	146/59	4	1,294	0,134	Druse
30	152/59	3	1,180	0,070	Castrandus
31	153/59	2	1,066	0,067	Spat
32	155/59	9	1,718	0,096	chron.Bronchitis
33	70/59	8	1,492	0,096	o.B.
34	Versuchspfd.	8	1,398	0,092	o.B.
35	125/59	6	1,751	0,118	Radialislähmung
36	123/59	6	2,261	0,229	Spat
37	133/59	4	2,277	0,220	Tendinitis
38	161/59	4	2,470	0,070	Spat
39	147/59	12	1,944	0,061	Podotrochlitis
40	162/59	4	1,909	0,089	Tarsitis chronica deformans
41	202/59	3	1,243	0,064	Hufllederhautnekrose
42	198/59	7	2,010	0,140	Ekzem
43	Versuchspfd.ü.	20	2,305	0,164	o.B.
44	" "	20	1,482	0,095	o.B.
45	" ca	20	1,483	0,092	o.B.
46	" ü.	20	1,581	0,102	o.B.
47	23/60	11	1,132	0,083	o.B.
48	Versuchspfd.	15	1,548	0,092	o.B.
49	"	10	2,983	0,178	o.B.
50	"	7	1,546	0,116	o.B.

Tabelle II

Bilirubinmittelwerte von 15 Pferdeseren bei der Prüfung auf Bilirubinhaltbarkeit im Serum (Angaben in mg%)

Nr.	Stunden nach der Blutabnahme	Gesamt-bilirubin	"direktes" Bilirubin
1	nach 24 Std.	1,725	0,108
	" 96 "	1,725	0,121
	" 120 "	1,738	0,115
2	nach 24 Std.	1,472	0,118
	" 48 "	1,490	0,112
	" 72 "	1,452	0,115
3	nach 24 Std.	1,931	0,108
	" 96 "	2,064	0,133
	" 168 "	2,004	0,121
4	nach 24 Std.	1,760	0,118
	" 48 "	1,760	0,130
5	nach 24 Std.	1,982	0,133
	" 120 "	2,026	0,143
6	nach 48 Std.	1,421	0,096
	" 216 "	1,433	0,093
7	nach 96 Std.	2,990	0,244
	" 144 "	3,022	0,267
8	nach 24 Std.	1,164	0,077
	" 96 "	1,139	0,054
9	nach 24 Std.	1,294	0,137
	" 144 "	1,456	0,146
10	nach 48 Std.	1,066	0,067
	" 96 "	1,031	0,080
11	nach 24 Std.	1,718	0,096
	" 72 "	1,716	0,093
12	nach 96 Std.	1,110	0,035
	" 264 "	1,155	0,064
13	nach 48 Std.	2,261	0,229
	" 168 "	2,254	0,200
14	nach 48 Std.	2,115	0,118
	" 168 "	2,112	0,127
15	nach 48 Std.	1,944	0,061
	" 168 "	2,023	0,096
	" 216 "	2,023	0,070

3.a) Bestimmung der Gesamtbilirubins bei hungernden Pferden

Bei diesen Untersuchungen wurden 2 Methoden zur Bilirubinbestimmung herangezogen.

I. Die Methode (M.I) nach JENDRASSIK und GROF (27).
II. Die Methode (M.II) nach JENDRASSIK und GROF in der Modifikation nach WITH (60).

Acht gesunde Pferde ließ ich über mehrere Tage hungern. Sie erhielten nur Trinkwasser nach Bedarf. Den Pferden wurde ein Maulkorb umgebunden, um das Fressen von Einstreu zu unterbinden.

Eine Zusammenfassung sämtlicher Ergebnisse zeigt die Tabelle III auf den Seiten 38 bis 40. Weiterhin wurde für jedes Pferd der Verlauf des Bilirubinspiegels während des Hungerversuches in Kurven dargestellt, die auf den Seiten 41 bis 48 zu finden sind.

1. Pferd: FLORA 11 Jahre

Zu Beginn des Hungerversuches lag der Gesamtbilirubinwert im Mittel bei 1,975 mg% nach der Methode I. Bei der Messung mit der II. Methode ergab sich ein Mittelwert von 2,175 mg% Bilirubin.
Am 4. Hungertag betrug der Bilirubinwert nach Methode I 6,670 mg% und nach Methode II 7,100 mg%.
Die Konjunktiven waren verwaschen-gelblich.
Es war eindeutig eine starke Erhöhung des Gesamtbilirubins zu erkennen, und der Versuch wurde aus tierschützlerischen Gründen abgebrochen.

2. Pferd: URAL über 20 Jahre

Einen Tag vor Versuchsbeginn lag der Bilirubinspiegel nach M.I bei 2,292 mg% und nach M.II bei 2,410 mg%. Nach 4 Tagen war das Bilirubin auf 6,576 mg% nach M.I und auf 6,498 mg% nach M.II angestiegen. Das Pferd wurde gefüttert, und der Serumbilirubingehalt fiel innerhalb von 3 Tagen auf die Ausgangswerte ab. Nach M. I betrug er 2,328 mg%

und nach M. II 2,515 mg%. Die Lidbindehäute blieben an allen Tagen blaß-rosa.

3. Pferd: TEXAS über 20 Jahre

Die I. Methode ergab einen Tag vor dem Versuch 1,478 mg% Bilirubin, die II. Methode 1,624 mg%.
Nach 4 Tagen war ein Bilirubinanstieg auf 3,278 mg% nach M.I und auf 3,616 mg% nach M.II erfolgt. Vom selben Tage an wurde das Tier wieder gefüttert. Nach 6 Tagen erreichte der Bilirubinspiegel seine Ausgangswerte mit 1,487 mg% nach der I. Methode und mit 1,666 mg% nach der II. Methode.
Die Lidbindehäute blieben unverändert blaß-rosa.
Der Bilirubinanstieg erfolgte bei diesem Pferd nicht so steil, weil das Tier sich in der Nacht vom 3. zum 4. Hungertag vom Maulkorb befreien konnte und Stroh fraß.

4. Pferd: PRINZ ca. 20 Jahre

Der Serumbilirubingehalt betrug zu Beginn des Versuches nach der I. Methode 1,404 mg% und nach der II. Methode 1,651 mg%.
Das Pferd hungerte 4 Tage. Der Bilirubingehalt des Serums stieg auf 4,388 mg% nach M.I und auf 4,618 mg% nach M.II an. Fünf Tage nach wieder einsetzender Fütterung hatte sich der Bilirubinwert normalisiert. Er betrug nach Methode I 1.474 mg% und nach der II. Methode 1,598 mg%.
Bei diesem Pferd war während des Hungerversuches keine Verfärbung der Konjunktiven zu erkennen.

5. Pferd: SATURN, über 20 Jahre

Das Serum dieses Tieres hatte zu Beginn des Hungerversuches einen Bilirubingehalt von 1,542 mg% nach M.I und von 1,860 mg% nach M. II.
Nach 4 Hungertagen war der Bilirubinspiegel auf 3,311 mg% nach M.I und auf 3,720 mg% nach M.II gestiegen. Das Pferd wurde wieder gefüttert, und der Bilirubingehalt des Serums fiel innerhalb von 5 Tagen auf 1,627 mg% nach der I. Methode und auf 1,761 mg% nach der II. Methode.
Die Lidbindehäute waren immer blaß-rosa.

6. Pferd: MUSTAFA 12 Jahre

Am 1. Hungertag betrug der Bilirubingehalt des Serums nach der I. Bestimmungsmethode 1,116 mg% und nach der II. Methode 1,234 mg%.
Nach 3 Hungertagen war der Bilirubinwert auf 3,113 mg% nach M. I und auf 3,511 mg% nach M. II gestiegen.
Der Bilirubinanstieg bei diesem Pferd war geringer als bei den anderen. Das Pferd befreite sich jede Nacht von seinem Maulkorb und fraß Stroh.
Mit einsetzender Fütterung fiel der Bilirubinspiegel und erreichte seinen normalen Durchschnittswert nach 5 Tagen mit 1,148 mg% nach M. I und mit 1,320 mg% nach der II. Methode.
Die Konjunktiven zeigten keine Farbveränderungen.

7. Pferd: MAXE 15 Jahre

Zu Beginn des Hungerversuches betrug der Bilirubinwert nach M. I 2,055 mg% und nach M.II 2,353 mg%. Die Konjunktiven waren verwaschen-gelblich.
Nach 3 Tagen stieg der Bilirubingehalt des Serums auf 6,829 mg% nach M. I und auf 7,336 mg% nach M.II. Die Lidbindehäute zeigten vom 3. Hungertag an einen ikterischen Farbton.
Das Tier erhielt Futter, und das Bilirubin sank in seinem Serumwert innerhalb von 6 Tagen auf 1,548 mg% nach Methode I und auf 1,802 mg% nach der II. Methode. Die Konjunktiven zeigten wieder den verwaschen-gelblichen Farbton wie am 1. Versuchstag.

8. Pferd: QUERKUS 10 Jahre

Am 1. Versuchstag lag der Serumbilirubinspiegel bei 4,286 mg% nach der I. Bilirubinbestimmungsmethode und bei 4,716 mg% nach der II. Bestimmungsmethode. Die Lidbindehäute hatten einen verwaschen-gelblichen Farbton.
Nach 3 Hungertagen stieg der Bilirubingehalt nach M.I auf 7,717 mg% und nach M. II auf 8,489 mg%. Am 3. Hungertag waren die Konjunktiven stark ikterisch gefärbt.
Nach 4 Fütterungstagen fiel der Serumbilirubinwert auf 3,440 mg% nach M.I und auf 3,956 mg% nach der II. Methode.
Die Konjunktiven nahmen wieder einen verwaschen-gelblichen

Farbton an. Am 6. Tag nach einsetzender Fütterung war der Bilirubingehalt noch weiter abgefallen auf 2,914 mg% nach der I. Methode und auf 3,238 mg% nach der II. Bestimmungsmethode.

Die nach der II. Methode bestimmten Bilirubinwerte lagen bei allen 8 Pferden im Durchschnitt um 0,304 mg% höher als die nach der I. Methode bestimmten Bilirubinwerte.

b) Bilirubinbestimmung des "direkten" Bilirubins bei hungernden Pferden

Die Bestimmung des "direkten" Bilirubins wurde mit der Methode nach JENDRASSIK und CLEGHORN (25) durchgeführt. Die Bestimmung wurde gleichzeitig mit der Gesamtbilirubinbestimmung und an den selben Pferden zur selben Zeit durchgeführt.

1. Pferd: FLORA

Zu Beginn des Hungerversuches betrug das "direkte" Bilirubin im Mittel 0,159 mg/100 ml Serum.
Am 4. Hungertag war der Bilirubin-spiegel auf 0,460 mg% angestiegen. Am selben Tag wurde der Versuch abgebrochen und das Pferd gefüttert.

2. Pferd: URAL

Bei Versuchsbeginn betrug der Mittelwert des "direkten" Bilirubins 0,213 mg%.
Vier Tage nach Beginn des Versuches wurden 0,283 mg% "direktes" Bilirubin im Serum gefunden. Das Pferd wurde gefüttert, und der Bilirubinwert fiel langsam ab. Er erreichte innerhalb von 3 Tagen den Wert von 0,201 mg%.

3. Pferd: TEXAS

Bei diesem Pferd betrug einen Tag vor Versuchsbeginn das "direkte" Bilirubin 0,130 mg%.
Innerhalb von 4 Tagen stieg es auf 0,209 mg%. Nach wieder einsetzender Fütterung fiel der Serumspiegel des "direkten" Bilirubins am folgenden Tage auf 0,102 mg% ab und betrug nach weiteren 5 Tagen 0,061 mg%.

4. Pferd: PRINZ

Einen Tag vor Beginn des Versuches hatte das Pferd einen Serumspiegel von 0,045 mg%. Nach 4 Hungertagen betrug das "direkte" Bilirubin 0,162 mg%.
Nach einsetzender Fütterung fiel das "direkte" Bilirubin in 5 Tagen wieder ab auf 0,089 mg%.

5. Pferd: SATURN

Der Durchschnittsgehalt an "direktem" Bilirubin betrug 0,102 mg%.
Nach 3 Hungertagen stieg der Bilirubinspiegel auf 0,229 mg%.
Einen Tag später fiel er wieder ab auf 0,203 mg%.
Am 4. Hungertag erhielt das Pferd Futter. Das "direkte" Bilirubin fiel darauf innerhalb von 5 Tagen auf 0,146 mg pro 100 ml Serum ab.

6. Pferd: MUSTAFA

Dieses Pferd hatte bei Versuchsbeginn 0,102 mg% "direktes" Bilirubin im Serum.
Nach 3 Tagen Hungerzustand stieg es auf 0,181 mg%.
Mit einsetzender Fütterung fiel das "direkte" Bilirubin in 5 Tagen auf 0,064 mg%.
Dieses Pferd hatte den niedrigsten Anstieg an "direktem" Bilirubin. Dazu ist zu sagen, daß das Pferd sich jede Nacht vom Maulkorb befreite und Einstreu fraß.

7. Pferd: MAXE

Am Vormittag des 1. Hungertages betrug der Serumgehalt 0,096 mg% "direktes"Bilirubin.
Am 3. Tag war ein Anstieg auf 0,407 mg% zu verzeichnen.
Das Pferd wurde gefüttert, und das "direkte" Bilirubin fiel innerhalb von 6 Tagen auf den Ausgangswert ab. Es betrug 0,092 mg%.

8. Pferd: QUERKUS

Bei Beginn des Hungerversuches hatte der Serumspiegel des "direkten" Bilirubins eine Höhe von 0,248 mg%.
Während der 3 Hungertage stieg er auf 0,370 mg% an.
Nach einsetzender Fütterung fiel das "direkte" Bilirubin in 4 Tagen auf 0,239 mg% ab. Nach weiteren 2 Tagen betrug es nur noch 0,159 mg/100 ml Serum.

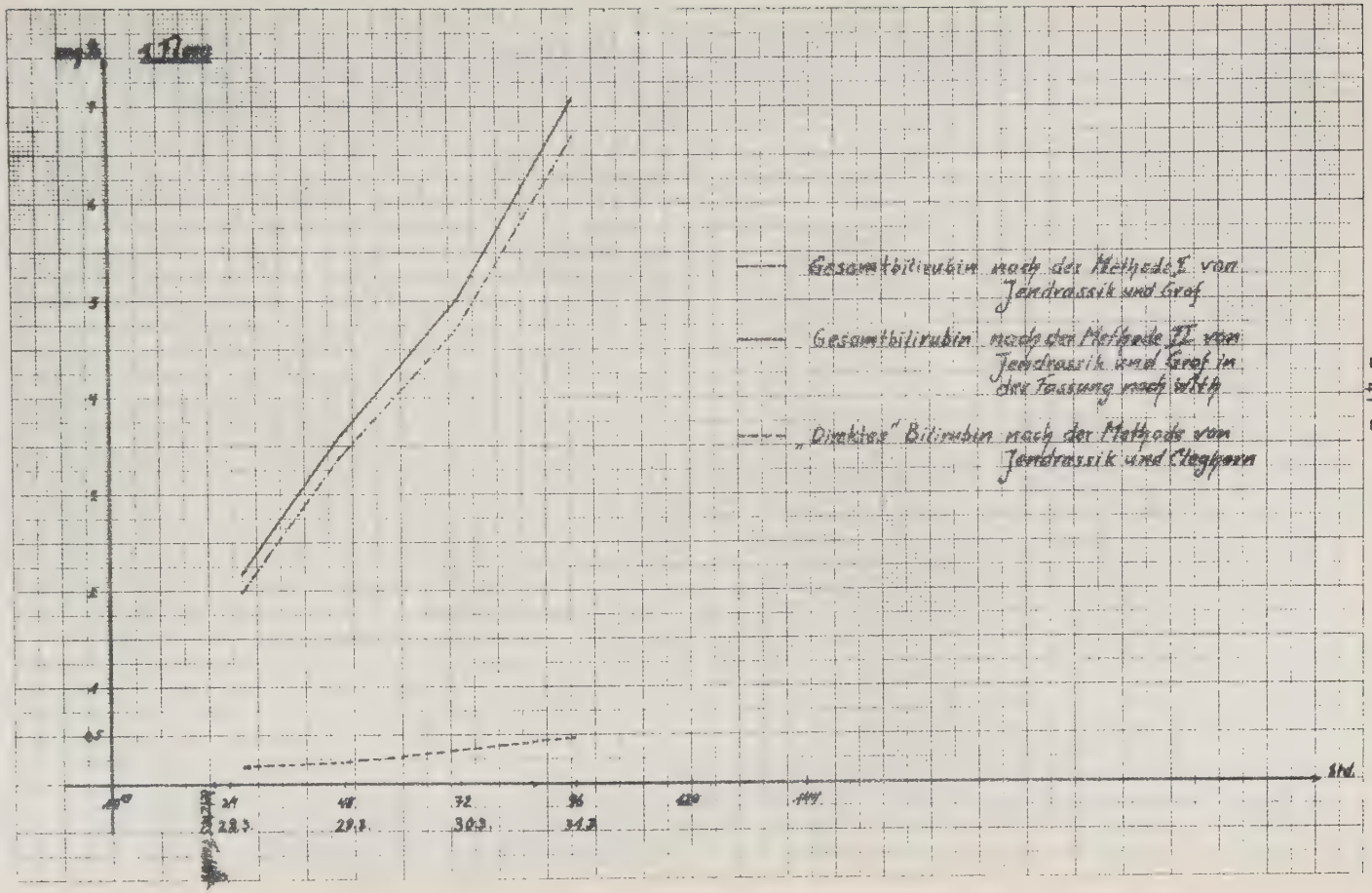
Tabelle III

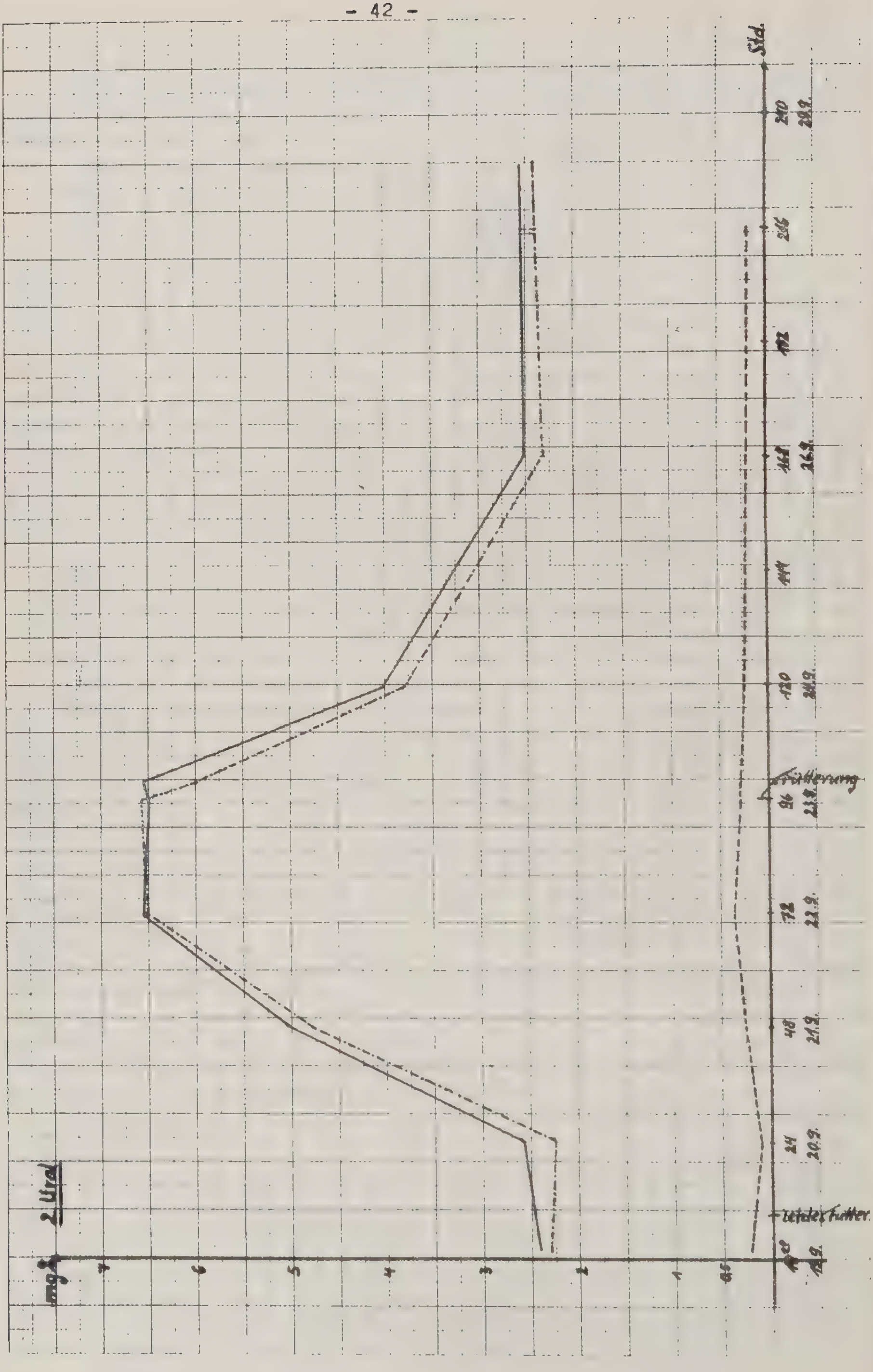
Bestimmungsmittelwerte des Gesamtbilirubins und des "direkten" Bilirubins von 8 gesunden Pferden im Hungerversuch (Angaben in mg/100 ml Serum).

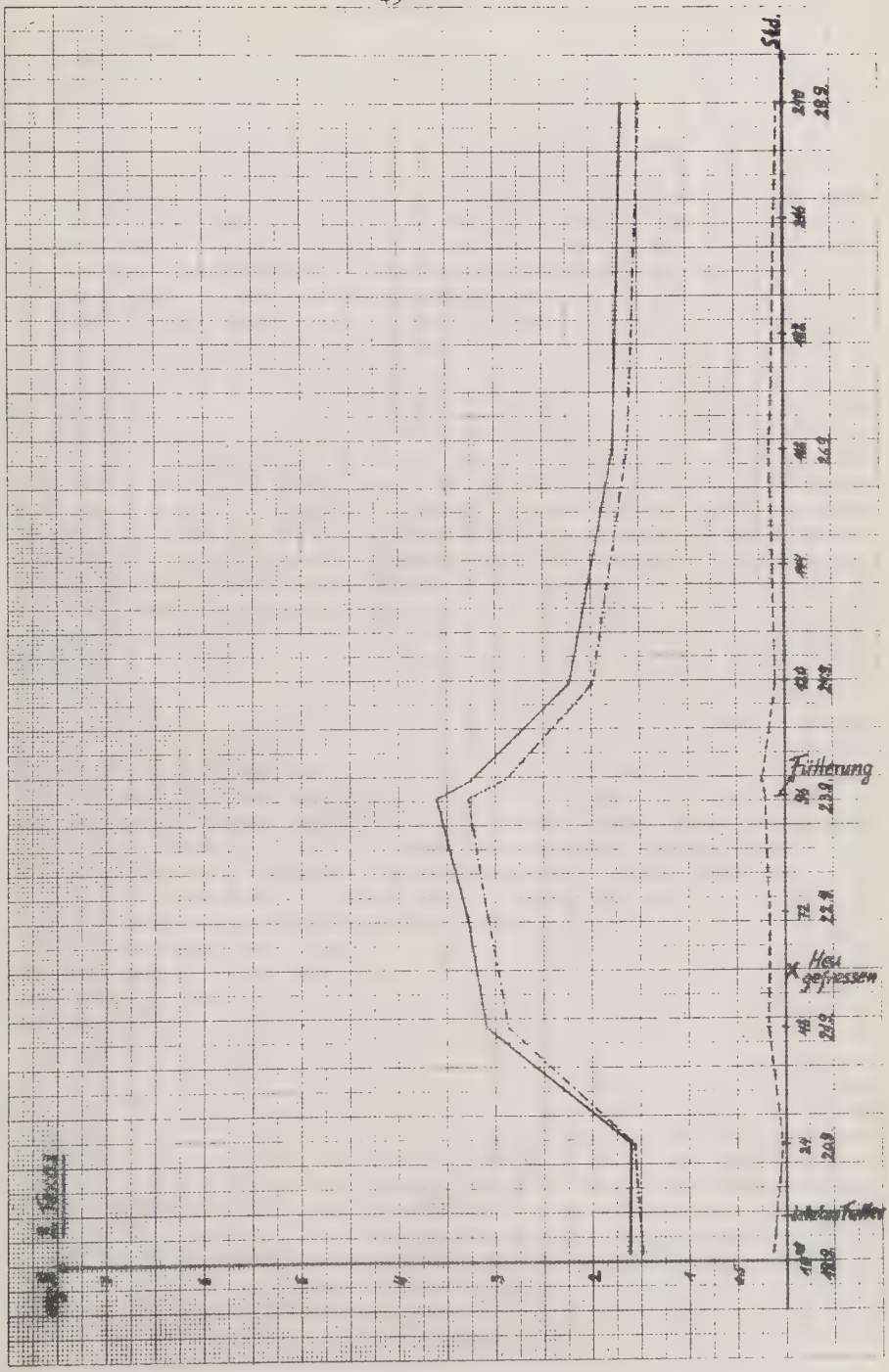
	Tag	Zeit	Gesamtbilirubin nach Methode I	Gesamtbilirubin nach Methode II	"direktes" Bilirubin	Konjunktiven
1.	FLORA					
	28.3.	7.oo	letztes Futter			
		13.oo	1,975	2,175	0,159	blaß-roa
	29.3.	9.30	3,383	3,620	0,210	"
	30.3.	9.30	4,705	5,004	0,340	"
	31.3.	9.30	6,670	7,100	0,460	verwaschen-gelblich
	Am selben Tag Abbruch des Versuches.					
2.	URAL					
	19.9.	11.30	2,292	2,410	0,213	blaß-roa
		19.oo	letztes Futter			
	20.9.	10.oo	2,232	2,568	0,102	"
	21.9.	10.oo	4,781	5,030	0,251	"
	22.9.	9.30	6,512	6,550	0,355	"
	23.9.	9.30	6,576	6,498	0,283	"
		10.oo	Fütterung			
		13,30	5,986	6,550	0,280	"
	24.9	9.30	3,786	4,035	0,226	"
	26.9	10.oo	2,328	2,515	0,201	"
	29.9	10.oo	2,391	2,541	0,178	"
3.	TEXAS					
	19.9	11.30	1,478	1,624	0,130	blaß-rosa
		19.oo	letztes Futter			
	20.9.	10.oo	1.570	1,598	0,032	"
	21.9	10.oo	2.860	3,092	0,175	"
	Das Pferd hat sich in der Nacht zum 22.9. losgerissen und hat Stroh gefressen.					
	22.9.	9.30	3.079	3,301	0,168	"
	23.9.	9.30	3.278	3,616	0,209	"
		10.oo	Fütterung			
		13.30	2.904	3,249	0,232	"

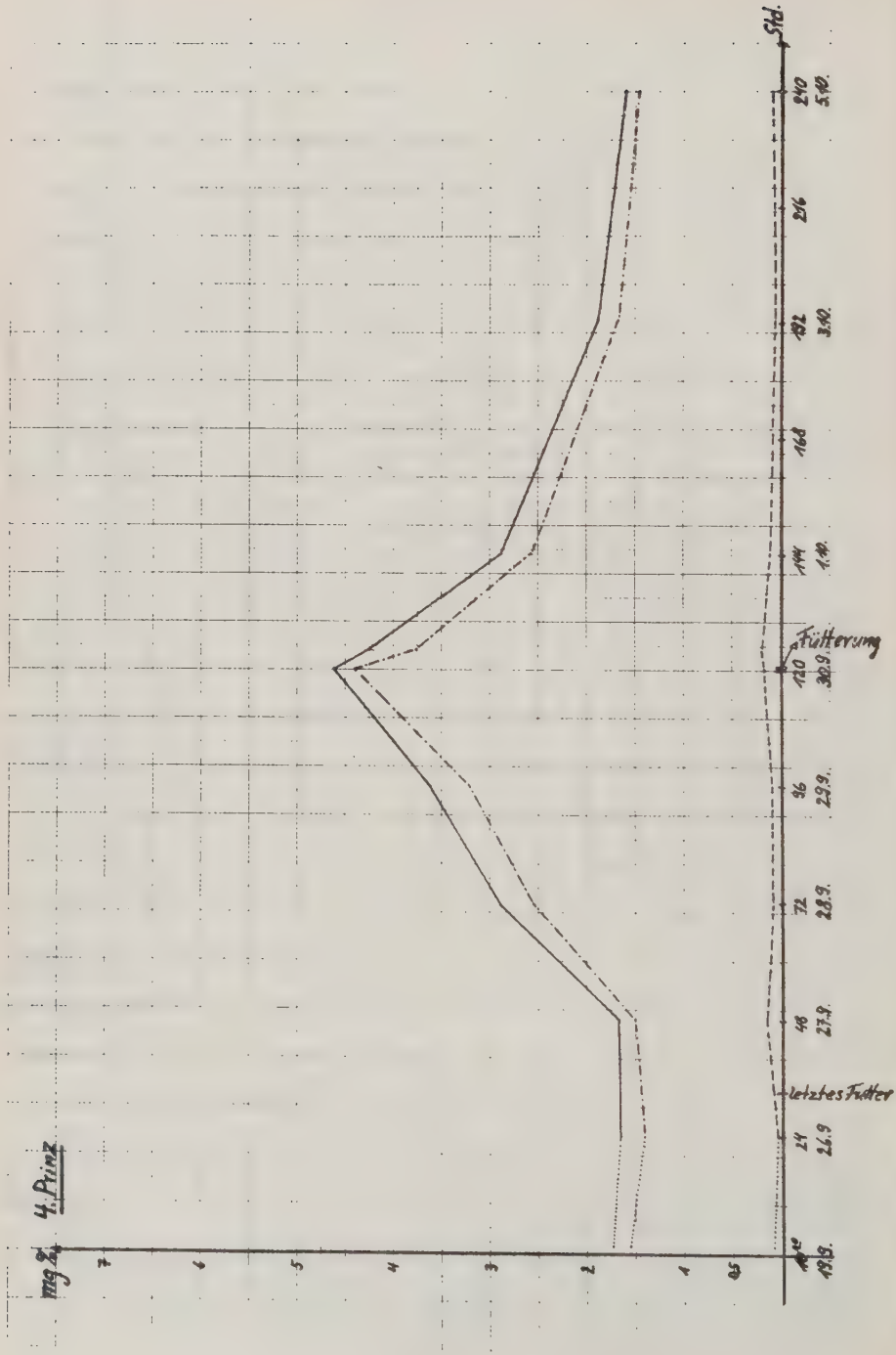
Tag	Zeit	Gesamtbilirubin nach Methode I	Gesamtbilirubin nach Methode II	"direktes" Bilirubin	Konjunktiven
24.9.	9.30	2,001	2,227	0,102	blaß-rosa
26.9.	10.oo	1,617	1,761	0,143	"
29.9.	10.oo	1,487	1,666	0,061	"
PRINZ					
19. 9.	11.30	1,551	1,729	0,089	blaß-rosa
26. 9.	10.oo	1,404	1,651	0,045	"
	19.oo	letztes Futter			
27. 9.	10.oo	1,503	1,666	0,146	"
28. 9.	9,30	2,539	2,882	0,093	"
29. 9.	10.oo	3,206	3,616	0,092	"
30. 9.	10.oo	4,388	4,618	0,162	"
	10.30	Fütterung			
	14.oo	3,764	4,244	0,178	"
1.10.	10.oo	2,562	2,887	0,102	"
3.10.	10.30	1,668	1,886	0,067	"
3.10.	10.oo	1,474	1,598	0,089	"
SATURN					
19. 9.	11.30	1,621	1,808	0,102	blaß-rosa
26. 9.	10.oo	1,542	1,860	0,102	"
	19.oo	letztes Futter			
27. 9.	10.oo	1,627	1,939	0,071	"
28.9.	9.30	3,358	3,982	0,172	"
29. 9.	10.oo	3,501	3,930	0,229	"
30. 9.	10.oo	3,311	3,720	0,203	"
	10,30	Fütterung			
	14.oo	3,126	3,563	0,207	"
1.10.	10.oo	2,622	2,934	0,166	"
3.10.	10.30	1,744	1,991	0,172	"
5.10.	10.oo	1,627	1,761	0,146	"
MUSTAFA					
25.10.	12.oo	letztes Futter			
	14.30	1,116	1,234	0,102	blaß-rosa
26.10.	10.oo	1,836	2,017	0,105	"
	14.30	2,169	2,536	0,096	"

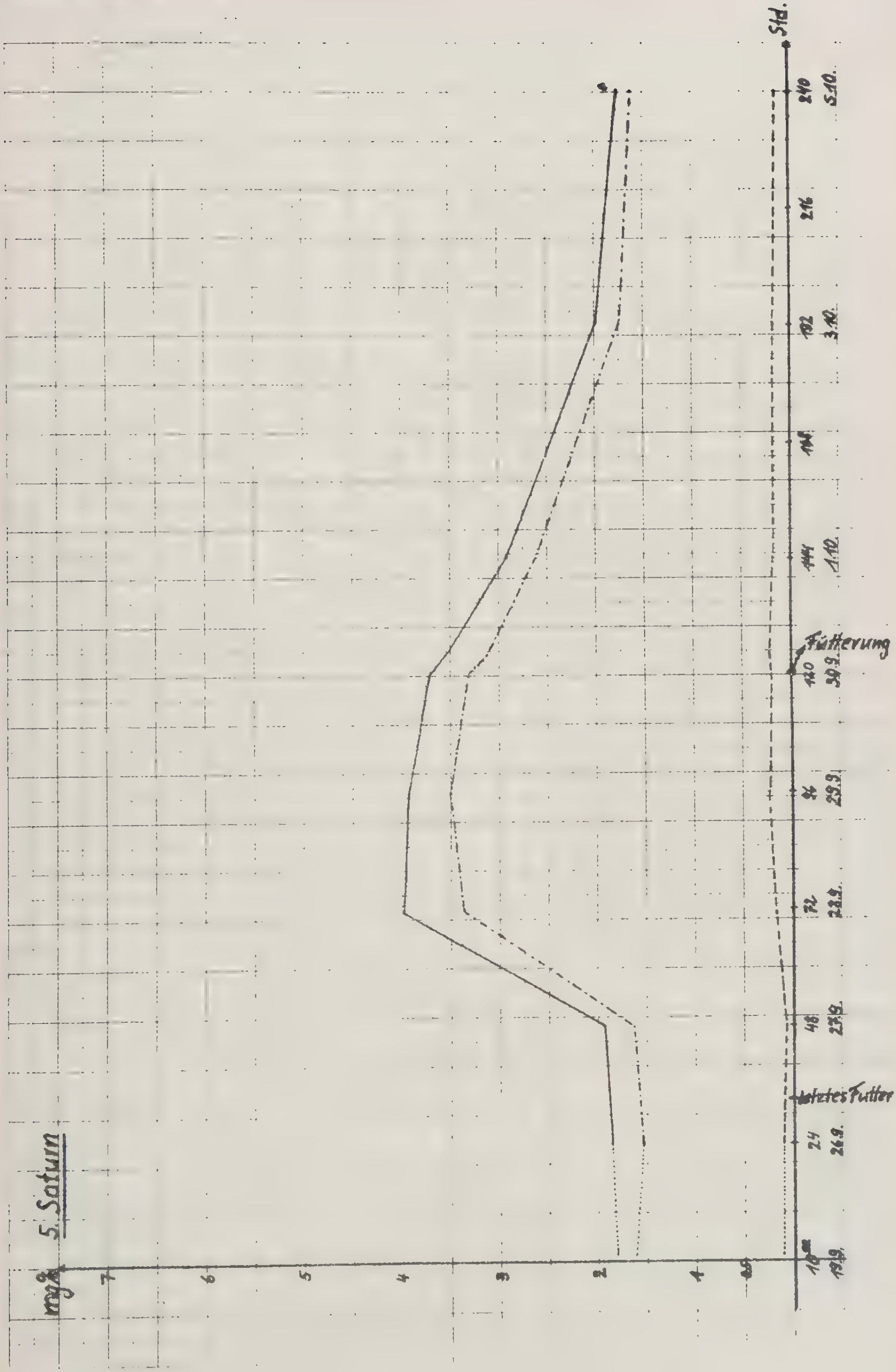
Tag	Zeit	Gesamtbilirubin nach Methode I	Gesamtbilirubin nach Methode II	"direktes" Bilirubin	Konjunktiven
27.10.	10.00	3,113	3,511	0,181	blaß-rosa
	14.00	2,993	3,521	0,096	"
	14.30	Fütterung			
	17.30	2.707	3.092	0,127	"
Das Pferd befreite sich in den Nächten zum 26.10 und 27.10 vom Maulkorb und fraß Stroh.					
28.10.	10.oo	1,512	1,771	0,105	"
	17.oo	1.687	1,944	0,073	"
29.10.	10.oo	1,424	1,635	0,086	"
31.10.	10.oo	1,148	1,320	0,064	"
7. MAXE					
31.10.	7.oo	letztes Futter			
	11.oo	2,055	2.353	0.096	verwaschen-gelblich
1.11.	10.30	3,497	3,878	0,207	"
2.11.	10,30	5,276	5,659	0,331	"
3.11.	10.30	6,734	7.179	0.425	ikterisch
	11.oo	Fütterung			
	15.30	6.829	7.336	0.407	"
4.11.	11.oo	5.342	5,869	0,362	"
5.11.	11.oo	3,697	4.176	0,187	"
7.11.	11.oo	1,997	2,253	0,124	verwaschen gelblich
9.11.	11.oo	1.548	1,802	0,092	"
8. QUERKUS					
31.10.	7.oo	letztes Futter			
	11,oo	4,286	4,716	0,248	verwaschen gelblich
1.11.	10.30	5,672	6,288	0,226	"
2.11.	10.30	6,448	6,760	0,305	ikterisch
3.11.	10.30	7,717	8,489	0,370	stark ikterisch
	11.oo	Fütterung			
	15.30	6,766	7,126	0,207	"
4.11.	11.oo	4,572	5,109	0,308	"
5.11.	11.oo	3,557	3,930	0,146	"
7.11.	11.oo	3,440	3,956	0,239	ikterisch
9.11.	11.oo	2,914	3,238	0,159	verwaschen-gelblich
nach 2 Monaten:					
19. 1.	11.30	3,053	3,144	0,197	

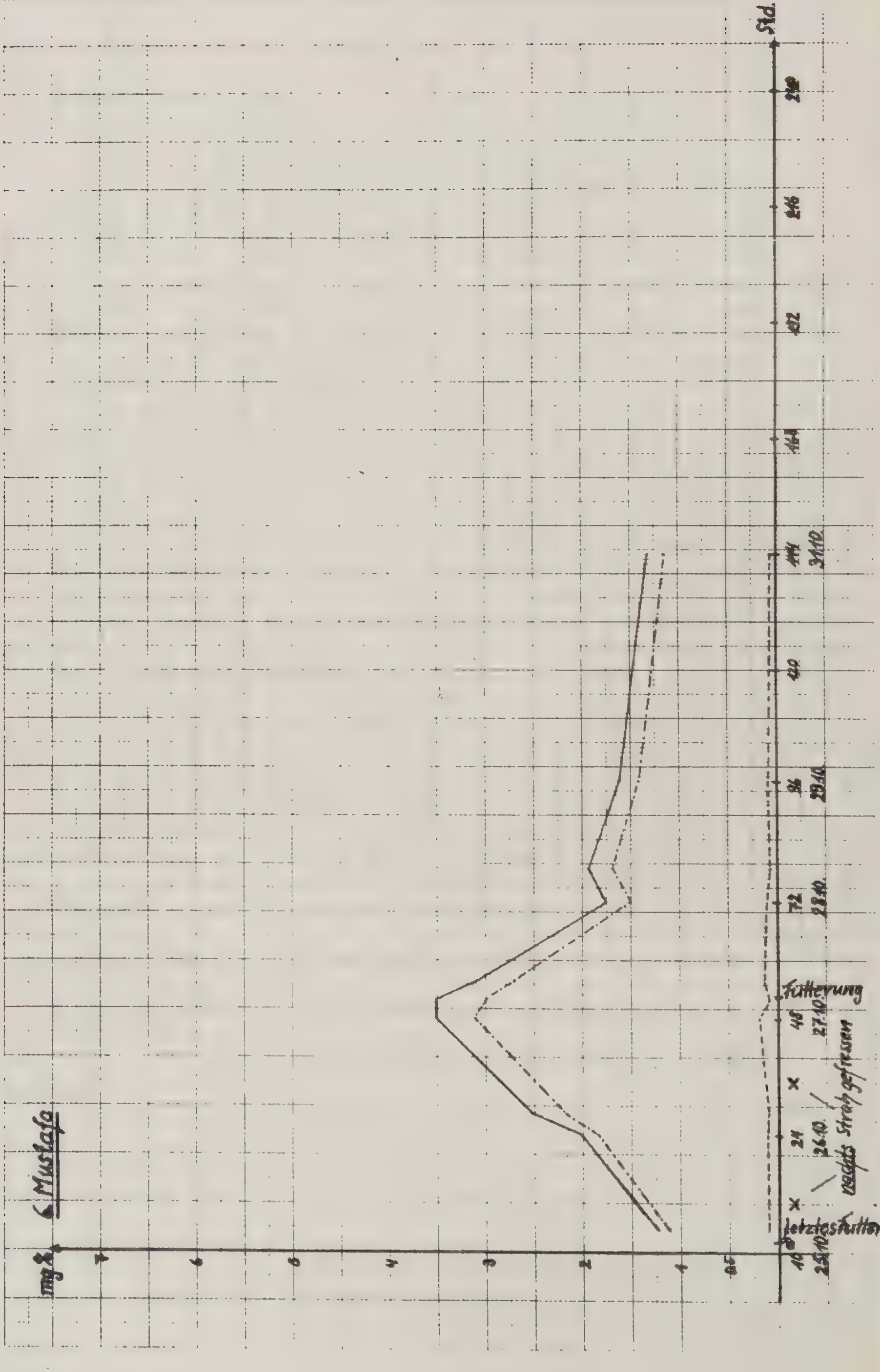

mg%
Gesamtbilirubin nach der Methode I von Jendrassik und Grof
Gesamtbilirubin nach der Methode II von Jendrassik und Grof in der Fassung nach Roth
„Direktes" Bilirubin nach der Methode von Jendrassik und Cleghorn

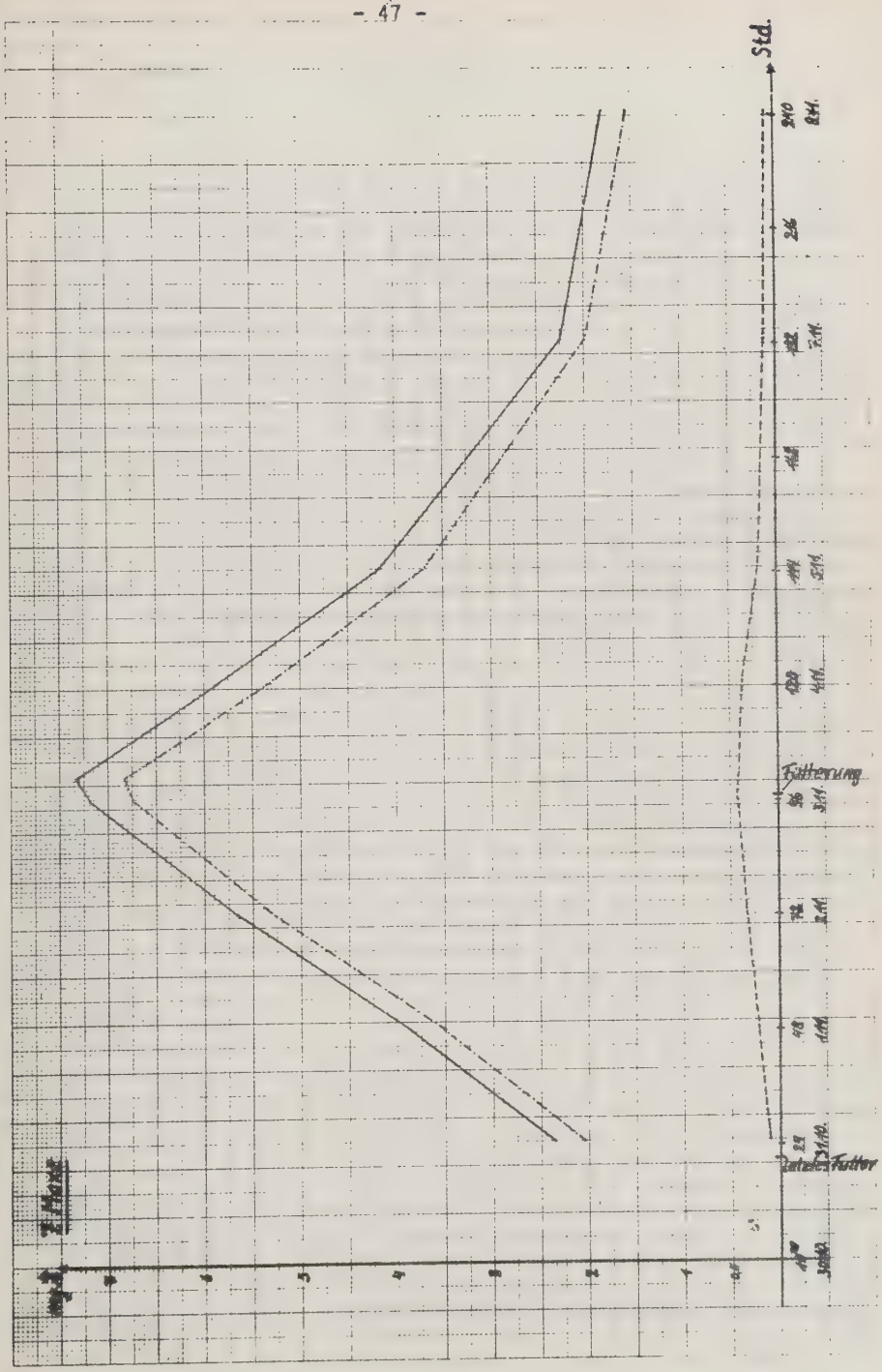

mg%
7
6
5
4
3
2
1
Std.
24
48
72
96
120
144
168
192
216
240
Fütterung
letztes Futter

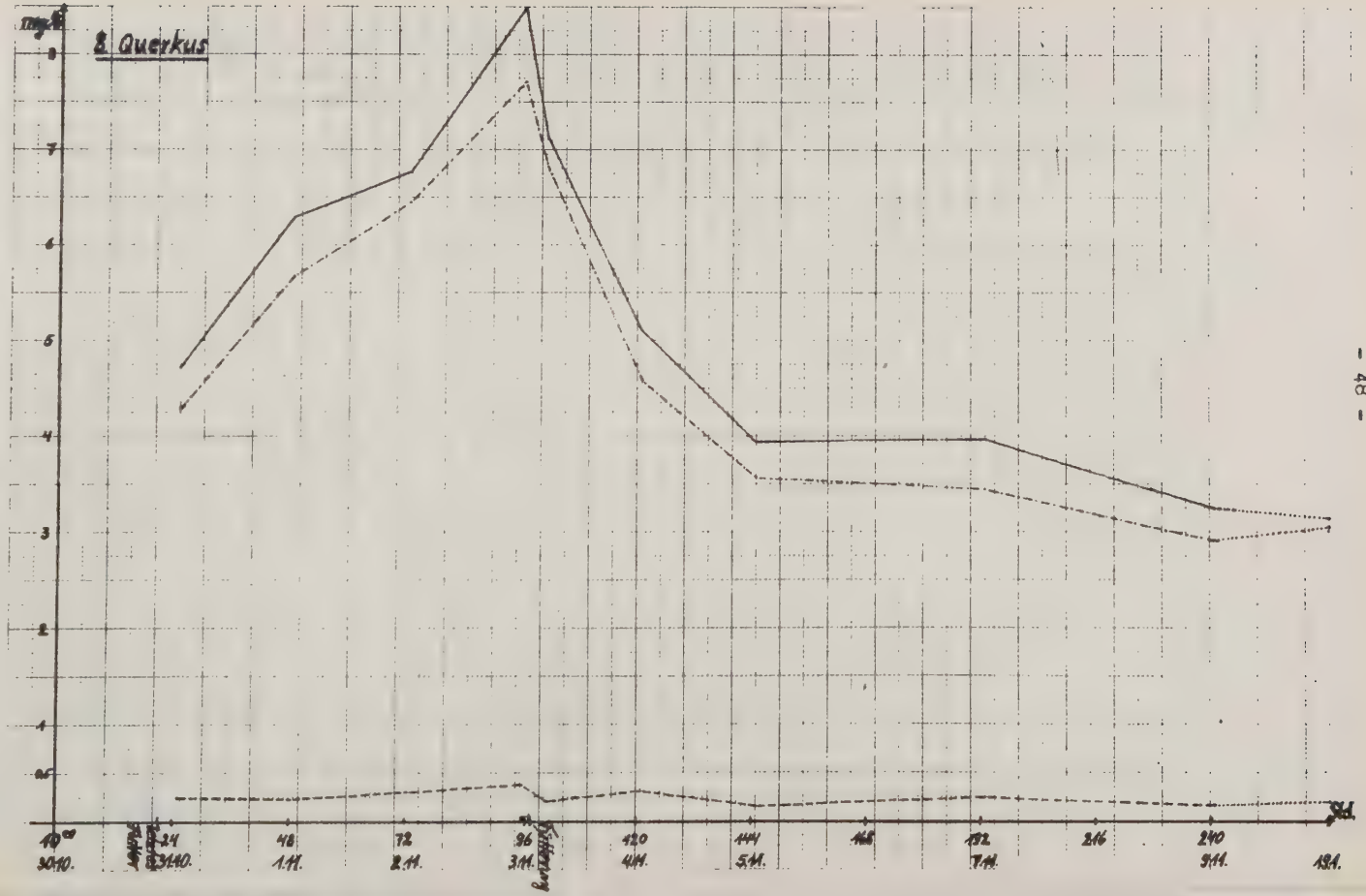

Std.
Fütterung
Heu gefressen


mg %
4. Prinz
Std.
Fütterung
letztes Futter
19.9.
24.9.
27.9.
28.9.
29.9.
30.9.
1.10.
3.10.
5.10.


5. Saturn
mg%
Std.
Fütterung
letztes Futter
24
48
72
96
120
192
216
240
26.9.
27.9.
28.9.
29.9.
30.9.
1.10.
3.10.
5.10.


6. Mustafa
mg%
7
6
5
4
3
2
1
0.5
Std.
24
48
72
96
120
144
216
25.10.
26.10.
27.10.
28.10.
29.10.
31.10.
letztes Futter
nachts Stroh gefressen
Fütterung


Std.
Fütterung


8. Querkus
mg%
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0,5
24
48
72
96
120
144
168
192
216
240
30.10.
31.10.
1.11.
2.11.
3.11.
4.11.
5.11.
7.11.
9.11.
13.1.

4. Diskussion der Untersuchungsergebnisse

Die Blutuntersuchungen bei 50 Pferden (siehe Tabelle I) ergaben Gesamtbilirubinwerte in einer Schwankungsbreite von 0,985 mg% bis 3,463 mg%. Der Mittelwert betrug 1,796 mg% bei einer durch zweimalige Messungen bestimmten Abweichung von ± 0,044 mg%. Damit werden die von EIKMEIER (15) und HEMPEL (22) gefundenen Werte voll und ganz bestätigt. Der Bilirubinspiegel ist bei Pferden über 2 Jahre unabhängig vom Alter der Tiere. Bei jungen Pferden wurde ein Mittelwert bestimmt, der unter dem Mittelwert des Gesamtbilirubins aller Pferde liegt. Bei 6 Pferden bis zu 2 Jahren betrug das arithmetische Mittel des Serumbilirubinspiegels 1,515 mg%.

BERGER (5) hat bisher als einziger Bilirubinwerte für Fohlen bis zu eineinhalb Jahren angegeben. Sein Mittelwert liegt mit 2,3 mg% jedoch doppelt so hoch wie sein Durchschnittswert für ältere Pferde. Leider ist auch nicht bekannt, wie viele Fohlen von ihm untersucht wurden.

Das "direkte" Bilirubin bewegte sich bei denselben 50 Pferden in einer physiologischen Schwankungsbreite von 0,000 bis 0,393 mg/100 ml Serum. Der Mittelwert betrug 0,109 mg% ± 0,021 mg% bei einer zweimaligen Messung der Diazoproben. Außer bei dem Pferd Nr. 15 in Tabelle I wurde sonst immer "direktes" Bilirubin festgestellt. Der Durchschnittswert des "direkten" Bilirubins bei den 6 jungen Pferden lag mit 0,0798 mg% tiefer als der Mittelwert aller Pferde. Bei über 2 Jahre alten Pferden ist die Höhe des "direkten" Bilirubins unabhängig vom Alter der Tiere.

Die nach längerer Lagerung auf Haltbarkeit des Serumbilirubins geprüften Seren ergaben konstante Werte. Die Seren wurden bis zu 11 Tagen aufbewahrt und geprüft. In den Seren veränderte sich das Bilirubin bei Aufbewahrung im Kühlschrank nicht. Bei 15 Seren wurde für das Gesamtbilirubin im Mittel eine Ablesungsdifferenz von ± 0,0368 mg% festgestellt.

Auch beim "direkten" Bilirubin traten bei mehrtägiger

Lagerung der Seren im Kühlschrank keine Mengenverluste auf. Die Ablesungsdifferenz betrug ± 0,016 mg% Bilirubin.

Die von WITH (60) durchgeführten Untersuchungen beim Menschen konnten auch beim Pferd bestätigt werden. WITH lagerte Seren bis zu 14 Tagen im Kühlschrank und fand keine Bilirubinverluste im Serum.

Die von HÖLTING (23) vertretene Ansicht, wonach die Seren nach spätestens 3 bis 4 Stunden untersucht werden müßten, da bei längerer Aufbewahrung das Bilirubin in Biliverdin umgewandelt werde, konnte durch meine Untersuchungen nicht bestätigt werden.

Bei Hungerversuchen mit 8 gesunden Pferden kam es zu eindeutigen Anstiegen des Gesamtbilirubins und des "direkten" Bilirubins. Es kamen 2 Methoden der Bilirubinbestimmung zur Anwendung, wobei die Methode nach JENDRASSIK und GROF in der Modifikation von WITH (60) im Durchschnitt um 0,304 mg% höhere Bilirubinwerte lieferte als die einfache Methode nach JENDRASSIK und GROF (27). Dabei ist zu berücksichtigen, daß bei der Methode in der Fassung nach WITH die Diazotierung erst nach 10 Minuten abgestoppt, bei der anderen hingegen schon nach 5 Minuten abgelesen wird.

Ich ließ die Pferde 3 bzw. 4 Tage hungern. Es kam dabei zu einem Anstieg um 3 bis 4 mg% Gesamtbilirubin auf das 2,5 bis 3-fache der Ausgangswerte. Nach einsetzender Fütterung fiel der Bilirubinspiegel innerhalb von 5 bis 6 Tagen wieder auf seine Ausgangswerte.

Beim "direkten" Bilirubin erfolgte nach 3 bzw. 4 Hungertagen ein Anstieg im Gesamtmittel um 0,114 mg% auf das Doppelte der Ausgangswerte. Nach 5 bis 6-tägiger Fütterung erfolgte hier ebenfalls ein gleichmäßiger Abfall auf die Ausgangswerte.

Die Serumwerte des "direkten" Bilirubins nach der Methode von JENDRASSIK und CLEGHORN (25) - gemessen nach einer Diazotierungsdauer von 5 Minuten - sind so minimal, daß sie kaum ins Gewicht fallen. Höhere Werte erhält man jedoch, wenn

die Diazotierungsdauer auf 10 Minuten ausgedehnt wird. Die Methode von JENDRASSIK und CLEGHORN in der Modifizierung nach WITH (60) ergibt ebenfalls höhere Werte an "direktem" Bilirubin.

Will man den Bilirubinindex berechnen, der sich aus dem Verhältnis von "direktem" zu "indirektem" Bilirubin zusammensetzt, so benutzt man zweckmäßiger eine Methode mit verlängerter Diazotierungsdauer, die höhere Bilirubinwerte ergibt. Auf die Berechnung des Bilirubinindexes wurde in dieser Arbeit nicht eingegangen, da nach Untersuchungen von WITH(60) sein klinischer Wert fraglich ist.
Ergänzend sei dazu gesagt, daß teilweise nach der Methode von JENDRASSIK und CLEGHORN (25) die Bilirubinwerte nach einer 15 Minuten dauernden Diazotierung ein zweites Mal gemessen wurden. Es stellte sich heraus, daß dann die Werte des "direkten" Bilirubins um fast das Doppelte der nach 5 Minuten bestimmten Werte angestiegen waren. Daraus ergibt sich, wie wichtig die Angabe der Diazotierungsdauer bei Bilirubinbestimmungen ist. Andererseits ist es überhaupt fraglich, ob die Bestimmung des "direkten" Bilirubins einen großen Aussagewert besitzt, da die Möglichkeit, verschiedene Bilirubinwerte aus einer Serumprobe zu erhalten, sehr groß ist.

Von mehreren Autoren wurden bei Bilirubinbestimmungen bei hungernden Pferden eine Erhöhung des Serumbilirubins festgestellt, ohne daß der erhöhte Bilirubinspiegel mit dem Hungerzustand der Tiere in Zusammenhang gebracht wurde.

LOHRAFF (31) stellte bei seinen Untersuchungen erhöhte Serumbilirubinwerte bei an Blinddarmverstopfung erkrankten Pferden fest. Er meinte, daß die Bilirubinanstiege mit dem Druck des gefüllten Blinddarmkopfes auf die Leber zusammenhingen. Dadurch würden die Gallenkapillaren verschlossen und die Galle gehe ins Blut über.

APPEL (1) übernahm 1956 diese Theorie in seine Arbeit.

GEBAUER (18) untersuchte bei Pferden mit fieberhaften Erkrankungen den Serumbilirubinspiegel. Sie fand teil-

weise einen Anstieg der Bilirubinwerte. Sie führte es auf eine eventuelle toxische Schädigung der Leber zurück und berücksichtigte nicht, daß die meisten der fieberhaft erkrankten Pferde kaum Nahrung aufnehmen.

Als erster erkannte ZINK (63), daß mehrtägiger Nahrungsentzug die Serumbilirubinwerte erheblich erhöhe.

MEYER (38) brachte die Bilirubinspiegelerhöhung bei Schlachtpferden nicht mit dem Hungerzustand der Tiere in Zusammenhang, sondern glaubte, daß das beträchtliche Alter der Pferde für die Höhe des Bilirubinspiegels verantwortlich sei. Eine Bestätigung kann MEYER'S Ansicht nicht finden, da nach meinen Untersuchungen der Serumbilirubinspiegel bei Pferden über 2 Jahren unabhängig vom Alter ist.

NEUMANN-KLEINPAUL, ZELLER und JAKOB (45) fanden bei einseitiger Haferfütterung einen Bilirubinanstieg im Serum. Diesen Anstieg brachten sie mit dem Magen-Darmkatarrh in Verbindung. Ihre eigenen Feststellungen, daß die Pferde nach 3 Wochen so gut wie keinen Hafer mehr aufnahmen, berücksichtigten sie überhaupt nicht.

BERGER (5) stellte schon nach einem Nahrungsentzug von 1 bis 2 Tagen eine Bilirubinerhöhung bei Pferden fest.

KLAUS und MATTHIAS (29) ließen bei ihren Untersuchungen über den Serumbilirubinspiegel bei Borna'scher Krankheit mehrere Pferde hungern und stellten ebenfalls eine Erhöhung des Bilirubins fest. Sie vertreten die Ansicht, daß der Bilirubinanstieg damit zusammenhänge, daß das Pferd keine Gallenblase als Reservoir für Galle und Bilirubin besitze. Die ununterbrochene Produktion an Bilirubin müsse deshalb während des Hungerns ins Blut abgegeben werden.

Gegen diese Ansicht sprechen aber die Befunde aus der Humanmedizin. Schon 1869 stellte NAUNYN (44) fest, daß es beim Menschen eine Hungerbilirubinämie gebe. In jüngster Zeit wurden darüber Untersuchungen von HUTHALA 1937, BALZER 1953 und BÜSCHKE und VOLKHEIMER 1956 (zit. n. WITH (60)) nach der Methode von JENDRASSIK und CLEGHORN (25) durchgeführt. Sie stellten dabei fest, daß bei Nahrungsaufnahme das Serumbilirubin einen Abfall zeige. Nach 24 bis 36-stündigem Hun-

gern kam es zu einem Bilirubinanstieg um 100 bis 200 %. Da der Mensch eine Gallenblase besitzt, und es bei ihm ebenfalls zu einer Hungerbilirubinämie kommt, muß die Theorie von KLAUS und MATTHIAS, daß der Bilirubinanstieg mit dem Fehlen der Gallenblase zusammenhänge, angezweifelt werden.

Es ist eher anzunehmen, wie es auch BAUMGÄRTEL (3) in seiner Monographie vertritt, daß zwischen Ikterusgenese und Glykogenolyse ein Zusammenhang besteht.

Im Hungerzustand wird vermehrt Glykogen abgebaut, das die Permeabilität der Leberzellen in Richtung Blutstrom erhöht. An diesen Stellen kann dann das Bilirubin mit dem Glukosestrom in die Blutbahn übertreten. Einen ähnlichen Vorgang findet man bei der Muskeltätigkeit. So kommt es ungefähr 30 Minuten nach Beginn einer Muskeltätigkeit beim Menschen zu einem 20 bis 40 %igem Anstieg des Serumbilirubins. Der bei der Muskelarbeit einsetzende Glykogenabbau bewirkt also ebenfalls eine Permeabilitätserhöhung in den Leberzellen, so daß die Zellen das Bilirubin in die Blutbahn diffundieren lassen.

Damit ist auch der bei kranken, nichtfressenden Tieren meist nach 1 bis 2 Tagen eintretende Bilirubinanstieg im Serum zu erklären. Erhöhte Bilirubinwerte bei kranken Pferden können deshalb in diagnostischer Hinsicht nur mit größter Vorsicht beurteilt werden, da sie meistens nur auf den Hungerzustand der Tiere zurückzuführen sind. Eine diagnostische Bilirubinbestimmung bei kranken Pferden mit verminderter Freßlust wird somit wenig Zweck haben.

IV. Zusammenfassung:

In der vorliegenden Arbeit wurden Serumbilirubinbestimmungen bei Pferden, insbesondere bei Pferden im Hungerzustand durchgeführt.

1.) Es kamen 50 Pferde zur Untersuchung, die entweder gesund oder mit einer Krankheit behaftet waren, die keinen Einfluß auf den Bilirubinstoffwechsel hatte.

Das Gesamtbilirubin wurde nach der Methode von JENDRASSIK und GROF (27) bestimmt.

Das "direkte" Bilirubin wurde mit der Methode nach JENDRASSIK und CLEGHORN (25) im Serum nachgewiesen.

Bei beiden Methoden wurde die Bilirubinbestimmung nach einer Diazotierungsdauer von 5 Minuten vorgenommen. Die Messungen wurden mit dem Elektrophotometer "Elco II" der Firma Carl Zeiss durchgeführt.

Das Gesamtbilirubin wurde immer nachgewiesen. Das "direkte" Bilirubin konnte ebenfalls - bis auf einen Fall - nachgewiesen werden.

Bei 50 untersuchten Pferden ergaben sich Gesamtbilirubinwerte, die zwischen 0,985 mg% und 3,463 mg% lagen. Das arithmetische Mittel betrug 1,796 mg% $\pm$ 0,044 mg% bei einer zweimaligen Messung der Proben.

Für das "direkte" Bilirubin wurden Werte von 0,000 bis 0,393 mg% gemessen. Der Mittelwert lag bei 0,109 mg%. Die Schwankungsbreite bei einer zweimaligen Messung der Diazoproben betrug $\pm$ 0,021 mg%.

Junge Pferde bis zu 2 Jahren hatten im Mittel niedrigere Werte, sowohl beim Gesamtbilirubin mit 1,515 mg% als auch beim "direkten" Bilirubin mit 0,08 mg%.

Bei über 2 Jahre alten Pferden war die Höhe des Serumbilirubinspiegels unabhängig vom Alter der Tiere.

2.) Bei der Überprüfung der Haltbarkeitsdauer des Bilirubins im Serum ergaben sich unveränderte Bilirubinwerte noch nach 11-tägiger Lagerung der Seren im Kühlschrank.

3.) Bei den Hungerversuchen wurde zur Gesamtbilirubinbestimmung zusätzlich noch die Methode nach JENDRASSIK und GROF in der Modifikation von WITH (60) benutzt. Die Diazotierung wurde nach 10 Minuten mit Fehling II-Lösung unterbrochen.

Bei der Bilirubinbestimmung nach der von WITH (60) modifizierten Methode ergaben sich im Mittel um 0,304 mg% höhere Gesamtbilirubinwerte als nach der einfachen Bestimmungsmethode von JENDRASSIK und GROF (27).

Acht gesunde Pferde hungerten 3 bzw. 4 Tage. Es erfolgte im Mittel ein Anstieg des Gesamtbilirubins um 3 bis 4 mg% auf das 2,5 bis 3-fache der Ausgangswerte. Nach einsetzender Fütterung fiel der Bilirubinspiegel innerhalb von 5 bis 6 Tagen wieder gleichmäßig auf die Ausgangswerte ab.

Das "direkte" Bilirubin stieg nach 3 bzw. 4 Hungertagen im Mittel um 0,114 mg% auf das Doppelte der Ausgangswerte. Fünf bis sechs Tage nach erfolgter Fütterung waren die Bilirubinwerte wieder auf die Ursprungswerte abgefallen.

Es wird angenommen, daß der Serumbilirubinanstieg bei hungernden Pferden mit dem vermehrten Glykogenabbau zusammenhängt. Tatsache ist, daß dadurch die Permeabilität der Leberzellen erhöht wird. Somit kann an diesen Stellen mit dem Glukosestrom auch das Bilirubin in die Blutbahn übertreten. Ähnliche Serumbilirubinanstiege sind auch nach Muskeltätigkeit bei Untersuchungen in der Humanmedizin festgestellt worden. Dieses bei Tieren zu überprüfen, wäre noch notwendig.

Als weiteres ist zu beachten, daß kranke Pferde häufig in ihrer Freßlust nachlassen und oft das Futter gänzlich verweigern. Dadurch kommt es aber zu Serumbilirubinerhöhungen, so daß Bilirubinbestimmungen als diagnostische Hilfsmittel wenig Zweck haben bzw. bei Bilirubinbestimmungen die Komponente des Hungerzustandes mit berücksichtigt werden muß.

Bei Bilirubinbestimmmungen ist es sehr wichtig, anzugeben, wieviel Minuten nach einsetzender Diazotierung die Bilirubinwerte abgelesen wurden. Bei Bestimmungen des "direkten" Bilirubins ergeben sich besonders nach der Methode von JENDRASSIK und CLEGHORN (25) bei einem 5 Minutenwert beim Pferd nur sehr niedrige Werte, die auf den gesamten Serumbilirubinspiegel kaum einen Einfluß haben. Es wird daher empfohlen, die Bestimmung erst 10 Minuten nach einsetzender Diazotierung durchzuführen oder die Methode nach JENDRASSIK und CLEGHORN in der Änderung von WITH (60) anzuwenden, die höhere Werte ergibt. Andererseits wird überhaupt in Frage gestellt, ob die Bestimmung des "direkten" Bilirubins beim Pferd von großem Nutzen sei.

V. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s :

1. APPEL, M. Vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Leberfunktionsprüfungen beim Pferd. Vet.-med. Diss. Hannover 1956

2. ASCHOFF, L. Über Gallenfarbstoffbildung und Gelbsucht. Klin. Wschr. 2, 1932, S. 1620

3. BAUMGÄRTEL, Tr. Physiologie und Pathologie des Bilirubinstoffwechsels als Grundlagen der Ikterusforschung G. Thieme Verlag, Stuttgart 1950

4.a) BAUMGÄRTEL und FILLIBECK zitiert nach BAUMGÄRTEL (3)
b) " " HOFSTÄTTER " " "
c) " " TRUMMER " " "
d) " " WINHOLD " " "

5. BERGER, H.-J. Die Bestimmung der Gallenfarbstoffe im Blut und Harn der Haustiere Vet.-med. Diss. Gießen 1955

6. BERGH, H. van den Der Gallenfarbstoff im Blut, Vet.-med. Diss. Leipzig 1918

7. " und SNAPPER, J. zit. nach Baumgärtel (3)

8. " und MÜLLER, P. " " With (60)

8.a) BERNARD, Cl. zit. nach Grassnickel (19)

9. BIERTHEN, E. Untersuchungen über das Vorkommen des Bilirubins in der Galle, in dem Harn und dem Blutserum des Pferdes. Vet.-med. Diss. Bern 1906 zit. nach With (60)

10. BILLING, B.H. und LATHE, G.H. zit. nach With (60)

11. BUNGENBERG de Jong, W.J.H. Ein Verfahren zur getrennten quantitativen Bestimmung des direkten und indirekten Bilirubins. Klin. Wschr. 1942, S. 885 zit. nach With (60)

12. CHRUSTALEV, S. Material zum Studium der Resistenz der roten Blutkörper gegen isotonische Lösungen von Na_2SO_4 und über die quantitativen Schwankungen des Bilirubins im Serum in Abhängigkeit von der qualitativen und morphologischen Eigenschaft des Blutes und der physikalischen Eigenschaften bei gesunden Pferden verschiedener Typen. Jahresbericht Vet.-med. 49, 2, 1929 Seite 717 - *Referat*

13. DÖRING, J. Bilirubinbestimmungen bei Pferden, die in der Sublimatprobe nach Fulton positiv reagieren. Vet.-med. Diss. Hannover 1940

14. EHRLICH, P. und PRÖSCHER, F. zit. nach Baumgärtel (3) und Döring (13)

15. EIKMEIER, H. Untersuchungen über den Serumbilirubinspiegel des Pferdes. BMTW 72, 3, 1959, S. 48

16. ELLENBERGER - BAUM Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. 18. Auflage, Springer, Berlin 1943

17. FORENBACHER, S. Vergleichende Untersuchungen über den Bilirubinstoffwechsel bei Pferden mit gesunder und kranker Leber. Die Veterinärmedizin 11, 1958, S. 461

18. GEBAUER, B. Der Bilirubinspiegel im Blutserum bei fieberhaften Erkrankungen der Pferde. Vet.-med. Diss. Berlin 1936

19. GRASSNICKEL, W. Die Bestimmung und Bedeutung des Bilirubins im Blutserum der Pferde. Vet.-med. Diss. Berlin 1926

19.a) " Der Bilirubinspiegel des Blutes nach Tetrachlorkohlenstoffgabe beim Pferde. Archiv f. wissenschaftl. und prakt. Tierheilkunde 61, 1, 1930

20. HAMMARSTEN, O. zit. nach Grassnickel (19) und With (60)

21. HEILMEYER, L. und KREBS, W. zit. nach With (60)

22. HEMPEL, E. Serumbilirubinbestimmung bei gesunden Pferden, Rindern und Schweinen nach den Methoden von Jendrassik - Grof und Heilmeyer. Vet.-med. Diss. Gießen 1960

23. HÖLTING, H. Untersuchungen über das Verhalten des Serumbilirubinspiegels bei der Kolik der Pferde nach Anwendung verschiedener zur Zeit gebräuchlicher Abführmittel. Vet.-med. Diss. Hannover 1938

24. ISAAC, S. zit. nach Baumgärtel (3)

25. JENDRASSIK, L. und CLEGHORN, R.A. Photometrische Bilirubinbestimmung. Biochem. Zeitschr. 289, 1, 1936

26. " und CZIKE, A. Bestimmung des Bilirubins. Dtsch, med. Wschr. 430, 1928

27. " und GROF, P. Vereinfachte photometrische Methode zur Bestimmung des Bilirubins. Biochem. Zeitschr. 297, S. 81, 1938

28. KLAUS, H. Untersuchungen über den Bilirubinstoffwechsel bei Pferden, Schafen, Kälbern und Kaninchen. Arch. f. experiment. Vet.-med. 12, 1958 Seite 725

29. KLAUS, H. und MATTHIAS, D. Das Verhalten des Serumbilirubinspiegels bei der Bornaschen Krankheit.
Arch. f. experiment. Vet.-med. 12, 1958, S. 152

30. LEPEHNE, G. zit. nach Baumgärtel (3)

31. LOHRAFF, G. Der Bilirubinspiegel im Blutserum bei an Blinddarmverstopfung erkrankten Pferden.
Vet.-med. Diss. Berlin 1931

32. LÖWITT, M. zit. nach With (60)

33. MALLOY, T.H. und EVELYN, K.A. zit. nach With (60)

34. MANN, F. C. und MAGATH, T. B. " " "

35. MAREK, J. und MOCSY, J. Lehrbuch der klinischen Diagnostik der inneren Krankheiten der Haustiere.
5. Auflage, Fischer 1956

36. Mc NEE, J.W. zit. nach With (60)

37. MEULENGRACHT, E. Die klin. Bedeutung der Untersuchung auf Gallenfarbstoff im Blutserum.
Dtsch. Arch. f. klin. Med. 132, 38 1920, zit. nach Grassnickel (19)

38. MEYER, K. Bilirubinbestimmung bei Schlacht- und Klinikpferden.
Vet.-med. Diss. Hannover 1938

39. MEYER, E. C. und HEINELT, H. zit. nach Baumgärtel (3)

40. MONKE, C. Ein Beitrag zur eiweißfreien Bilirubinbestimmung im Serum.
Zeitschr. f. ges. innere Med. 7, 1952, S. 238

41. MÜLLER, P. zit. nach With (60)

42. NABHOLZ, A. Quantitative Bilirubinbestimmung im Blutserum von Pferd und Rind.
Vet.-med. Diss. Zürich 1938

43. NATSCHEFF, B. Bilirubinbestimmungen im Blute der Pferde, Rinder, Büffel, Schafe, Schweine und Hunde. *Referiert in:* Jahresbericht d. Vet.-med. 67, 1940, S. 328

44. NAUNYN, B. zit. nach Baumgärtel (3)

45. NEUMANN-KLEINPAUL, K., ZELLER, R. und JAKOB, K. Einseitige Haferfütterung und ihre Folgen. Zblatt. f. Vet.-med. 1,7, 1954, S. 682

46. PFUHL, zit. nach Baumgärtel (3)

47. PÖPPINGHAUS, F. Der Bilirubingehalt im Blutserum und Bauchpunktat. Vet.-med. Diss. Hannover 1950

48. REICHARDT, H. - J. Der Bilirubinspiegel im Blutserum kolikkranker Pferde, ein prognostisches Hilfsmittel. Vet.-med. Diss. Berlin 1931

49. ROSENTHAL, F. zit. nach With (60)

50. ROSENTHAL, F., MELCHIOR, H. und LICHT, F. Die Bildungsstätten des Gallenfarbstoffes. Klin. Wschr. 1927, S. 2076 zit. nach Baumgärtel (3)

51. ROYER, M. , CHIARAVALLE, A. und ARAMBURU, H. G. zit. nach With (60)

52. SCHMIDT, D. und MATTHIAS, D. Untersuchungen über die Beziehungen der Bilirubinbildung zum Blutabbau bei der infektiösen Anämie des Pferdes. Arch. f. experment. Vet.-med. 10, 1956, S. 859

53. TANIGUCHI, K. Experimentelle Untersuchung über die Bildungsorte des Bilirubins. Jahresbericht d. ges. Physiologie Band 48, 1

54. THANNHAUSER, S. J. und ANDERSEN, E. zit. nach Döring (13)

55. VILCHES, O. Bilirubingehalt des Blutes gesunder Pferde.
Die Veterinärmed. 3, 1950, S. 17

56. VIRCHOW, R. zit. nach Baumgärtel (3)

57. WATSON, C. J. zit. nach With (60)

58. WESTPHAL, U. und GEDIGK, P. zit. nach Berger (5)

59. WIRTH, D. und DIERNHOFER, K. Lehrbuch der inneren Krankheiten der Haustiere, der Hautkrankheiten sowie der klin. Seuchenlehre. 2. Auflage, Enke Verlag 1950

60. WITH, T. K. Biologie der Gallenfarbstoffe. Thieme Verlag 1960

61. YAMAOKA, K. und KOSAKA, K. zit. nach With (60)

62. ZENGLEIN, Guy Les variations pathologiques de la bilirubinémie chez le cheval. (Die pathologischen Veränderungen der Bilirubinämie beim Pferde). Vet.-med. Diss. Paris 1930
Jahresbericht d. Vet.-med. 50, 1, 1931, S. 578 - *Referat*

63. ZINK, B. Untersuchungen über den Bilirubingehalt des Blutserums unserer Haustiere.
Vet.-med. Diss. Wien 1932

Herrn Professor Dr. Erwin B e c k e r danke ich herzlich für die Überlassung des Themas.

Herrn Dr. Rudolf Z e l l e r, Oberassistent an der Klinik für Pferdekrankheiten, gilt mein besonderer Dank für die jederzeit gewährte Unterstützung und Anregung.

Frau Zander danke ich für die tatkräftige Anteilnahme.

VI. L e b e n s l a u f

Am 12. März 1937 wurde ich als Sohn des Landwirtes Richard Keller und seiner Ehefrau Margarete, geb. Galster, in Eichtal, Kreis Hohensalza, in Westpreußen geboren. Von 1943 bis 1945 besuchte ich die Volksschule in Argenau. Nach dem Zusammenbruch des Hitlerregimes besuchte ich bis 1951 die 18. Grundschule in Berlin-Mahlsdorf, danach bis 1955 die Kant-Oberschule in Berlin-Lichtenberg. Hier legte ich am 7. Juni 1955 die Reifeprüfung ab.

Am 2. November 1956 wurde ich an der veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert, wo ich am 15. November 1961 die tierärztliche Prüfung bestand. Im Mai 1962 erhielt ich in Berlin die Approbation als Tierarzt.